TOMO III FACICULO I

MEMORIAS

DO

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

RIO DE JANEIRO — MANGUINHOS

1911

1255

SUMARIO:

I — Dr. H. DE BEAUREPAIRE ARAGÃO — Soroterapia e vacinação na espiroqueoze das galinhas 3

II — Dr. GOMES DE FARIA — Contribuição para a helmintolojia brazileira. (Styphlodora condita n. sp.) (Com a estampa 1)..... 40

III — Dr. ARTHUR MOSES — O virus do mixoma dos coelhos 46

IV — Dr. H. DE BEAUREPAIRE ARAGÃO — Observações sobre algumas hemogregarinas das aves (Com as estampas 2 e 3)..... 54

V — Dr. ADOLPHO LUTZ — Novas contribuições para o conhecimento das Pangoninas e Chrysopinas do Brazil (Com a estampa 4)..... 65

VI — Dr. PAULO HORTA — Sobre uma nova forma de Piedra (Com estampas 5 e 6). 86

VII — Dr. ASTROGILDO MACHADO — Pesquizas citolojicas sobre o Trypanozoma rotatorium «Gruby» (Com as estampas 7 e 8)..... 108

VIII Dr. — CARLOS CHAGAS — Sobre as variações ciclicas do cariozoma em duas especies de ciliados parazitos. Contribuição para o estudo do nucleo nos infuzorios (Com as estampas 9 e 10)..... 136

SOMMAIRE:

1 — Dr. H. DE BEAUREPAIRE ARAGÃO — Sorotherapie und Schutzimpfung bei der Huehnerspirochætose 3

II — Dr. GOMES DE FARIA — Beitraege zur Systematik der brasilianischen Helminthen, (Styphlodora condita n. sp. (Mit Tafel 1)..... 40

III — Dr. ARTHUR MOSES — Untersuchungen ueber das Virus myxomatosum der Kaninchen 46

IV — Dr. H. DE BEAUREPAIRE ARAGÃO — Beobachtungen ueber Haemogregarinen von Vögeln (Mit Tafeln 2 und 3)..... 54

V — Dr. ADOLPHO LUTZ — Neue Beitraege zur Kenntnis der Pangoninen und Chrysopinen Brasiliens (Mit Tafel 4)..... 65

VI — Dr. PAULO HORTA — Sur une nouvelle forme de Piedre (Avec les planches 5 et 6). 86

VII — Dr. ASTROGILDO MACHADO — Zytologische Untersuchungen ueber Trypanosoma rotatorium «Gruby» (Mit Tafeln 7 und 8)..... 108

VIII — Dr. CARLOS CHAGAS — Ueber die zyklischen Variationen des Caryosomes bei zwei Arten parasitischer Ciliaten. Beitrag zum Studium des Infusorienkernes. (Mit Tafeln 9 und 10)..... 136

AVIZO As «MEMORIAS» serão publicadas em faciculos, que não aparecerão em datas fixas e que formarão volumes de mais ou menos 200 pajinas. No minimo, aparecerá um volume por ano.

Na parte escrita em portuguez foi adotada a grafia aconselhada pela Academia de Letras do Rio de Janeiro.

Toda correspondencia relativa ás «MEMORIAS» deverá ser dirijida ao **«Diretor do Instituto Oswaldo Cruz — Caixa postal 926 — Manguinhos — Rio de Janeiro»**. Endereço telegrafico: **«Manguinhos»**.

AVIS Les «MEMOIRES» seront publiés par fascicules qui ne paraîtront pas en époques déterminées et qui formeront des volumes d'à peu près 200 pages. Il paraitra chaque année, au moins, un volume.

La partie portugaise est écrite selon la graphie adoptée par l'Académie de Lettres de Rio de Janeiro.

Toute correspondance doit être adressée au **«Directeur de l'Institut Oswaldo Cruz — Caisse postale 926 — Manguinhos — Rio de Janeiro»**. Adresse télégraphique: **«Manguinhos»**.

MEMORIAS

DO

INSTITUTO OSWALDO CRUZ

TOMO III

COM 19 ESTAMPAS

RIO DE JANEIRO — MANGUINHOS

1911

4394

Digitized by the Internet Archive
in 2025

https://archive.org/details/memorias-do-instituto-oswaldo-cruz_1911_3_1

INDICE

FACICULO I

Dr. H. DE BEAUREPAIRE ARAGÃO — Soroterapia e vacinação na espiroquetoze das galinhas.....

Dr. GOMES DE FARIA — Contribuição para a helmintolojia brazileira. (Styphlodora condita n. sp.) (Com a estampa 1)..... 40

Dr. ARTHUR MOSES — O virus do mixoma dos coelhos..... 46

Dr. H. DE BEAUREPAIRE ARAGÃO — Observações sobre algumas hemogregarinas das aves (Com as estampas 2 e 3)..... 54

Dr. ADOLPHO LUTZ — Novas contribuições para o conhecimento das Pangoninas e Chrysopinas do Brazil (Com a estampa 4)..... 65

Dr. PAULO HORTA — Sobre uma nova forma de Piedra (Com estampas 5 e 6)..... 86

Dr. ASTROGLIDO MACHADO — Pesquizas citolojicas sobre o Trypanosoma rotatorium «Gruby» (Com as estampas 7 e 8)..... 108

Dr. CARLOS CHAGAS — Sobre as variações ciclicas do cariozoma em duas especies de ciliados parazitos. Contribuição para o estudo do nucleo nos infuzorios. (Com as estampas 9 e 10)..... 136

Dr. H. DE BEAUREPAIRE ARAGÃO — Sorotherapie und Schutzimpfung bei der Huehnerspirochætose..... 3

Dr. GOMES DE FARIA — Beitraege zur Systematik der brasilianischen Helminthen. (Stypholdora condita n. sp.) (Mit Tafel 1)..... 40

Dr. ARTHUR MOSES — Untersuchungen ueber das Virus myxomatosum der Kaninchen..... 46

Dr. H. DE BEAUREPAIRE ARAGÃO — Beobachtungen ueber Haemogregarinen von Vögeln (Mit Tafeln 2 und 3)..... 54

Dr. ADOLPHO LUTZ — Neue Beitraege zur Kenntnis der Pangoninen und Chrysopinen Brasiliens (Mit Tafel 4)..... 65

Dr. PAULA HORTA — Sur une nouvelle forme de Piedra (Avec les planches 5 et 6).. 86

Dr. ASTROGILDO MACHADO — Zytologische Untersuchungen ueber Trypanosoma rotatorium «Gruby» (Mit Tafeln 7 und 8)..... 108

Dr. CARLOS CHAGAS — Ueber die zyklischen Variationen des Caryosomes bei zwei Arten parasitischer Ciliaten. Beitrag zum Studium des Infusorienkernes. (Mit Tafeln 9 und 10)..... 136

FACICULO II

Dr. HENRIQUE DE BEAUREPAIRE ARAGÃO—Notas sobre Ixódidas brazileiros (Com as estampas 11 e 12) 145

Dr. A. FONTES—Estudos sobre a tuberculoze (Com a estampa 13) 195

Dr. CARLOS CHAGAS—Nova entidade morbida do homem (Rezumo geral de estudos etiolojicos e clinicos) 219

Dr. GASPAR VIANNA—Contribuição para o estudo de anatomia patolojica da "Molestia de Carlos Chagas" (Esquizotripanoze humana ou tireoidite parazitaria) (Com as estampas 14 a 16) 276

Drs. ADOLPHO LUTZ e ARTHUR NEIVA — Notas dipterolojicas (Contribuições para o conhecimento dos dipteros sanguesugas do Noroeste de São Paulo e do Estado de Mato Grosso. (Com a descrição de duas especies novas) 295

Dr. PAULO HORTA—Contribuições para o estudo das dermatomicozes no Brazil—I. «Microsporon Flavescens», n. sp. ajente duma nova tinha microsporia (Com a estampa 17) 301

Dr. H. DE BEAUREPAIRE ARAGÃO—Estudos sobre Alastrim (Com a estampa 18) 309

Dr. ARTHUR MOSES—Dos metodos biolojicos de diagnostico nas cisticercozes 320

Dr. GOMES DE FARIA—Estudo estatistico sobre a frequencia de parazitos intestinais nas crianças do Rio de Janeiro 328

Drs. PAULO HORTA e ASTROGILDO MACHADO—Estudos citolojicos sobre o «Trypanosoma Chagasi», nova especie encontrada em peixes do genero «Plecostomus» (Com a estampa 19) 336

Dr. HENRIQUE DE BEAUREPAIRE ARAGÃO—Notes sur les ixodidés du Brésil (Avec les planches 11 et 12) 145

Dr. A. FONTES — Studien ueber Tuberkulose (Hierzu Tafel 13) 195

Dr. CARLOS CHAGAS — Ein neuentdeckter Krankheitsprozess des Menschen (Bericht über die ätiologischen und klinischen Beobachtungen) 219

Dr. GASPAR VIANNA—Beitrag zum Studium der pathologischen Anatomie der Krankheit von Carlos Chagas (Schizotrypanose des Menschen oder parasitäre Thyreoiditis) (Mit Tafeln 14-16) 276

Dr. ADOLPHO LUTZ und Dr. ARTHUR NEIVA — Dipterologische Mitteilungen. Beiträge zur Kenntnis der blutsaugenden Dipteren des Staates Matto Grosso und des Nordwestens von São Paulo. (Mit der Beschreibung neuer Arten) 295

Dr. PAULO HORTA — Contribution à l'étude des dermatomycoses du Brésil. I. «Microsporon flavescens», n. sp. agent d'une nouvelle microsporie (Avec la planche 17) 301

Dr. H. DE BEAUREPAIRE ARAGÃO — Studium ueber Alastrim (Mit Tafel 18) 309

Dr. ARTHUR MOSES — Ueber Anwendung biologischer Methoden bei der Diagnose der Cysticercosis 320

Dr. GOMES DE FARIA—Statistische Studien ueber die Häufigkeit der Darmparasiten bei den Kindern von Rio de Janeiro 328

Drs. PAULO HORTA e ASTROGILDO MACHADO — Zytologische Studien ueber «Trypanosoma Chagasi» n. sp. aus Fischen des Genus «Plecostomus (Mit Tafel 19) 336

Soroterapia e vacinação na espiroquetoze das galinhas

PELO

Dr. Henriquè de Beaurepaire Aragão,

Assistente.

Sorotherapie und Schutzimpfung bei der Hühnerspirochætose

VON

Dr. Henrique de Beaurepaire Aragão,

Assistenten am Institute.

I

SOROTERAPIA.

Contribuição para o tratamento soroterapico nas molestias produzidas por germens não cultivaveis.

Com o dezenvolvimento adquirido pela soroterapia, aumenta, cada dia, o numero de molestias contra as quais se procura obter soros especificos eficazes. Nos processos morbidos, que têm por fator etiolojico um germen cultivavel, a tecnica a empregar para o preparo dos soros não oferece grandes dificuldades; o mesmo porém, já não acontece quando se aborda o problema da soroterapia nas molestias produzidas por germens não cultivaveis. Nestas, o unico processo que se nos oferece para imunizar o animal consiste em inocular-o com os microbios retirados do organismo infetado, de mistura com os ele-

I

SEROTHERAPIE.

Beitrag zur Serotherapie der Krankheiten, welche durch unkultivierbare Keime erzeugt werden.

In Folge der Entwicklung der Serotherapie erfährt die Zahl der Krankheiten, gegen welche wirksame spefizifische Sera gesucht werden, eine tägliche Vermehrung. Bei den Prozessen, welche durch kultivierbare Keime verursacht werden, bietet die Technik für die Herstellung der Sera keine grossen Schwierigkeiten; dagegen ändert sich dies, wenn man das Problem der Serotherapie bei solchen Krankheiten angeht, welche durch nicht kultivierbare Keime hervorgerufen werden. Hier ist das einzige Verfahren, welches die Immunisierung des Tieres ermöglicht, die Einimpfung der Mikrobien, welche dem infizierten Organismus entstammen, zugleich mit den Zellelementen, von welchen sie sich in der Praxis nicht trennen lassen. Da jedoch,

mentos celulares, dos quais é impossivel, praticamente, separal-os. Como, porém, a inoculação de celulas de um animal em outro de especie diversa dá lugar a elaboração, no organismo deste, a citotoxinas especificas contra as celulas que lhe são injetadas, é de prever que o soro, preparado, como acima nos referimos, de acordo com a tecnica habitual, aprezentará, ao lado das provaveis propriedades terapeuticas, uma ação citotoxica acentuada e portanto será de emprego pouco recomendavel *in vivo*, onde iria cauzar lezões celulares profundas, senão mortais, no animal com elle injetado. Tem sido este o grande obice á soroterapia nas molestias produzidas por germens não cultivaveis. Diante delle têm recuado muitos pesquizadores, como Theiler (1905), Koch, Marchoux e Simond (1906), os quais tentando a imunização contra tais germens, tiveram ocazião de observar os dezastrosos efeitos dos soros obtidos, devido á intensa ação citotoxica deles. Ora, se o grande inconveniente dos soros preparados contra os germens não cultivaveis pela inoculação do animal com a mistura de celulas e microbios, está na formação de toxinas contra as celulas do organismo, em que eles devem ser empregados, porque não impedir a elaboração de tais citotoxinas no organismo submetido a imunização? Os conhecimentos atuais sobre a imunidade, de acordo com a escola de Ehrlich, oferecem ao problema uma solução facil, lojica e do maior rigor cientifico.

A produção de anticorpos, nos ensina a teoria de Ehrlich, está em relação com a fixação aos receptores celulares do organismo de certas substancias, toxicas ou não, que, se ligando a elles, os inutilizam e provocam a sua rejeneração em excesso, donde o desprendimento de numerozas dessas cadeias laterais do protoplasma e a sua passajem para o plasma. Nestas circumstancias, desde que se torne impossivel aquella combinação, faltará, *ipso facto*, a condição essencial, para que a produção de anticorpos tenha logar.

O meio eficaz e absolutamente racional,

wenn man Zellen eines Tieres einem andern von verschiedener Art einverleibt, in diesem spezifische Cytotoxine gebildet werden, so ist vorauszusehen, dass ein nach der gewöhnlichen Technik hergestelltes Serum neben den zu erwartenden therapeutischen Eigenschaften auch eine ausgesprochene cytotoxische Wirkung haben werde und daher seine Anwendung *in vivo* wenig zu empfehlen wäre, da es beim Versuchstiere eine ausgedehnte und möglicherweise tötliche Zellschädigung bewirken würde. Dies ist das grosse Hindernis für die Serotherapie der durch unkultivierbare Keime hervorgerufenen Krankheiten, vor welchem viele Forscher, wie Theiler (1905), Koch, Marchoux und Simond (1906), zurückschrekten, da sie bei dem Versuche einer solchen Immunisation Gelegenheit hatten, die in Folge starker cytotoxischer Eigenschaften verhängnisvolle Wirkung der erhaltenen Sera zu beobachten. Wenn nun aber der grosse Uebelstand solcher Sera, welche durch Einimpfung von Zellen und unkultivierbaren Mikrobien erhalten werden, in der Bildung von spezifischen Giften für die Zellen des zu vaccinierenden Tieres beruht, warum soll man nicht die Bildung solcher Zellgifte in dem zu immunisierenden Organismus verhindern? Unsere gegenwärtigen Kenntisse über die Natur der Immunität gestatten uns, im Einklange mit der Ehrlichschen Schule eine einfache, logische und streng wissenschaftliche Lösung dieses Problemes.

Wie die Ehrlichsche Theorie lehrt, hängt die Bildung der Antikörper ab von der Fixation gewisser toxischer oder ungiftiger Substanzen auf den Zellrezeptoren des Organismus, welche sich mit denselben verbinden und sie neutralisieren, wobei sie die Bildung neuer veranlassen und zwar im Ueberschusse, so dass sich viele solche Seitenketten vom Protoplasma ablösen und ins Plasma übergehen. Wenn aber unter derartigen Umständen diese Verbindung unmöglich wird, so fehlt, *ipso facto*, die notwendige Bedingung für die Produktion der Antikörper.

Das wirksame und ganz rationelle

que se nos oferece para conseguir este rezultado, consiste em introduzir no organismo a substancia, capaz de provocar nelle a formação de anticorpos citotoxicos, levando preza ao grupo haptoforo, um receptor identico, ao da celula, a que ella normalmente se fixa.

Desta forma, satisfeita a afinidade desse grupo, cessa o motivo, para que elle se fixe ao receptor celular e, por conseguinte, dezaparece a condição essencial, para que se dê a reação de imunização. A introdução no organismo de receptores, livres ou prezos a celulas, porém levando satisfeita a sua afinidade para as celulas desse organismo, pela saturação dellas pelos seus anticorpos correspondentes, impede a reação de imunização, como cabalmente provam os trabalhos de Rhens, injetando em animais misturas de toxinas e antitoxinas, os de Neisser e Lubowski (1901) inoculando bacilos saturados por aglutininas ou então por bacteriolizinas como fizeram Pfeifer e Friedberger (1902) e finalmente as interessantes pesquizas do Dungern (1900) e Sachs (1901) com globulos saturados por hemolizinas.

Estas demonstrações são de extraordinario valor pela segura orientação que dão ao problema da soroterapia nas molestias produzidas por germens não cultivaveis. De fato, nestas temos a injetar no organismo do animal, em que se quer preparar o soro, os microbios produtores da molestia e, juntamente com estes, as celulas ou receptores livres, que acompanham esses microbios e que, introduzidas no organismo do animal sem prévia saturação do seu poder imunizante, irão nelle provocar a formação de citotoxinas prejudiciais ao organismo do animal, em que o soro tiver de ser empre-

Mittel für die Erreichung dieses Resultates besteht darin, dass man dem Organismus eine Substanz einverleibt, welche befähigt ist, in demselben die Bildung von Antikörpern für die Cytotoxine zu veranlassen, indem sie mit der haptophoren Gruppe verankert, einen Rezeptor führt identisch mit demjenigen der Zelle, an welche sie, normaler Weise, gebunden ist.

Wird auf diese Weise die Affinität dieser Gruppe befriedigt, so fällt die Tendenz sich am Zellrezeptor zu fixieren weg und hiermit zugleich die wesentliche Bedingung einer Immunisationsreaktion. Führt man in einen Organismus freie oder an eine Zelle gebundene Rezeptoren ein, deren Affinität für die Zellen dieses Organismus jedoch bereits durch die entsprechenden Antikörper gesättigt ist, so wird eine Immunisationsreaktion unmöglich gemacht ; es geht dies aufs deutlichste aus den Arbeiten von Rhens, hervor, welche Tieren Mischungen von Toxinen und Antitoxinen injizierten, sowie aus denjenigen von Neisser und Lubowski (1901), welche mit Agglutininen gesättigte Bazillen einführten oder denjenigen von Pfeiffer und Friedberger (1902), bei welchen die Sättigung mit Bakteriolysinen stattfand und endlich aus den interessanten Versuchen von v. Dungern (1900) und Sachs (1901) mit durch Hämolysine gesättigten Blutkörperchen.

Diese Ergebnisse sind von ganz besonderem Werte, weil sie dem Probleme der Serotherapie der durch nicht kultivierbare Keime hervorgerufenen Krankheiten eine sichere Orientierung geben. In der Tat müssen wir bei diesen den für die Herstellung des Serums dienenden Tieren die Krankheitserreger und zugleich mit ihnen die Zellen oder freien Rezeptoren, welche die Keime begleiten, einspritzen ; würden diese dem tierischen Organismus ohne vorherige Sättigung ihrer immunisierenden Eigenschaften einverleibt, so würden sie bei diesem die Bildung von Cytotoxinen herbeiführen, welche für den Organismus des Tieres, bei dem das Serum angewandt werden soll, nachteilig sein.

gado. Como proceder a saturação desses receptores celulares?

Nenhuma dificuldade oferece a tecnica a empregar para se obter esse rezultado. Provoca-se a formação de anticorpos contra essas celulas em outro animal, inoculando-o com os mesmos elementos celulares, retirados dum animal são, e assim obtem-se naquelle, um soro carregado dos anticorpos necessarios á saturação dos receptores das celulas, quando em companhia dos microbios, tornando-se apenas necessario juntal-o, a mistura de celulas e microbios, em quantidade necessaria, para que todos os receptores celulares fiquem saturados por esses anticorpos. Uma vez conseguido isto, pode-se, sem perigo, injetar a mistura de microbios e celulas, com os receptores saturados, no organismo a imunizar contra aquelles, pois sob o ponto de vista da reação de imunização, nella provocada, tal mistura se comportará como se apenas nella existissem microbios, só contra estes se formando anticorpos.

Foi servindo-nos desta tecnica, que conseguimos alcançar os rezultados praticos dezejados e, em todos os pontos, confirmativos das nossas vistas teoricas sobre a questão.

Determinado o processo a seguir, restava escolher a molestia, em condições de servir ás experiencias que iamos tentar, para demonstrar praticamente suas vantajens.

Nenhuma se aprezentava em melhores condições para as pesquizas, que iamos executar, do que a espiroquetoze das gallinhas, destruidora epizootia, muito comum entre nós, e que, com facilidade, se pode reproduzir no laboratorio. O germen desta molestia, o *spirochaete gallinarum*, é muito abundantemente encontrado, no sangue dos animais infetados, durante um certo periodo da molestia e, praticamente, pode ser considerado um germen não cultivavel.

Wie soll man bei der Sättigung dieser Zellenrezeptoren verfahren? Die Technik, welche zur Erreichung dieses Resultates angewandt wird, bietet keine Schwierigkeiten.

Man veranlasst die Bildung von Antikörpern gegen diese Zellen, indem man dieselben Zellelemente einem gesunden Tiere entnimmt und sie einem anderen Tiere einverleibt; so erhält man bei diesem ein Serum, welches mit den, zugleich mit den Mikrobien eingeführten, zur Sättigung der Zellrezeptoren nötigen Antikörpern beladen ist; man braucht es dann nur der Mischung von Zellen und Mikrobien in der nötigen Menge zuzusetzen, damit alle Zellrezeptoren durch diese Antikörper gesättigt werden. Ist dies einmal erreicht, so kann man die Mischung von Microbien und Zellen mit gesättigten Rezeptoren ohne Gefahr dem zu immunisirenden Organismus einspritzen, da eine solche Mischung in Beziehung auf die Auslösung einer Immunisationsreaktion sich so verhält, als ob in derselben nur Mikrobien existierten, gegen welche sich dann auch Antikörper bilden.

Indem ich diese Technik befolgte, gelang es mir die gewünschten praktischen Resultate zu erzielen, welche Punkt für Punkt die theoretischen Anschauungen in dieser Frage bestätigten.

Nachdem das zu befolgende Verfahren festgestellt war, blieb mir noch übrig eine Krankheit auszuwählen, welche zu den Versuchen dienen könnte, welche den praktischen Nachweis der Vorzüge dieses Verfahrens erbringen sollten. Keine bot für diese Versuche bessere Bedingungen, als die Hühnerspirochätose, eine hierzulande häufige, verheerende Epizootie, welche sich zudem auch im Laboratorium leicht übertragen lässt. Der Erreger derselben, die *Spirochaete gallinarum* wird während einer bestimmten Krankheitsperiode in grosser Zahl im Blute der infizierten Tiere gefunden und kann in praktischer Hinsicht als unkultivierbarer Keim gelten. Als Serum-

Como animais productores de soro nos servimos de cabras. Um primeiro grupo destes animais foi destinado a fornecer o soro hemolitico que necessitavamos para saturar os receptores dos eritrocitos retirados do animal infetado, juntamente com os espiroquetes, e que, ao mesmo tempo que estes, deviam ser inoculados no animal a imunizar contra tais parazitos.

Um outro grupo de animais foi apenas inoculado com sangue desfibrinado de galinha infetada com espiroquetes, sem preparo previo algum (servindo assim de dupla testemunha para os inoculados com sangue do animal infetado, porém levando os receptores globulares saturados pela hemolizina especifica) comparando-se entre elles, não só o poder hemolitico como o imunizante adquirido.

Finalmente, o terceiro grupo de animais foi utilizado para o preparo do soro imunizante, não hemolitico, pela inoculação, nestes animais, de sangue de galinha infetada, de mistura ao soro hemolitico, necessario á saturação de todos os receptores dos eritrocitos.

Cabem, agora, aqui algumas palavras sobre a tecnica, empregada para a obtenção dos diferentes soros, cujos detalhes mais minuciozos se encontram em outro trabalho nosso (1905), não havendo motivo, por isso, para reproduzil-os todos aqui.

Para o preparo do soro simplesmente hemolitico, de que necessitavamos para a saturação dos receptores globulares, fizemos, nas cabras, repetidas inoculações subcutaneas de sangue desfibrinado, ocilando a quantidade de cada vez entre 20 a 60 cc. Depois de cada um desses animais ter recebido em sucessivas inoculações 80 a 100 cc. de sangue o seu soro aprezentava forte poder hemolitico, que se mantinha mais ou menos igual, repetindo as inoculações com 10 a 20 dias de intervalo.

O soro de cabra, já normalmente hemolitico para o sangue de galinha (na proporção de 0,24 cc. para 2 cc. de uma sus-

produzenten verwandte ich Ziegen und zwar wurde die erste Gruppe dieser Tiere zur Lieferung des hämolytischen Serums bestimmt. Letzteres brauchte ich für die Sättigung der Rezeptoren der Erithrocyten, welche den infizierten Tieren zugleich mit den Spirochäten entnommen wurden, um mit diesen zusammen dem zu immunisierenden Tiere eingespritzt zu werden. Eine zweite Gruppe dieser Tiere wurde nur mit defibriniertem Blute von an Spirochätose leidenden Hühnern ohne weiteren Zusatz geimpft, um auf diese Weise in doppelter Weise als Zeugen zu dienen für diejenigen, welche mit infiziertem Blute, dessen Zellrezeptoren aber durch spezifische Hämolysine gesättigt waren, vorbehandelt wurden. Es wurde dann bei beiden Gruppen nicht nur die erworbene Immunität verglichen. Die dritte Gruppe wurde endlich bei der Herstellung des nicht hämolytischen Immunserums verwandt, indem den Tieren infiziertes Hühnerblut mit einem zur Sättigung aller Rezeptoren der Erythrocyten genügenden Zusatze von hämolytischem Serum eingespritzt wurde.

Hier sind einige Bemerkungen am Platze betreffs der Technik, welche zum Zwecke der Gewinnung der verschiedenen Sera befolgt wurde; die genaueren Einzelheiten finden sich in einer anderen Arbeit von mir (1905) und brauchen daher hier nicht wiedergegeben zu werden.

Für die Herstellung des einfachen hämolytischen Serums, dessen ich zur Sättigung der Blutkörperchenrezeptoren bedurfte, machte ich den Ziegen wiederholt Einspritzungen von defibriniertem Blute, dessen Menge jeweilen zwischen 20 und 60 cbcm. schwandkte. Bei jedem Tiere, welches in wiederholten Einspritzungen 80—100 cc. erhalten hatte, zeigte das Serum hochgradige hämolytische Eigenschaften, welche sich ziemlich gleich blieben, wenn die Einspritzungen in Zwischenräume von 10—20 Tagen wiederholt wurden.

Das Ziegenserum ist für Hühnerblut schon normalerweise hämolytisch bis zu einem Verhältnisse von 0,24 zu 2 cbcm.

pensão a 5 % em agua fiziolojica (Nacl, 0,85 %) de globulos de galinha, adquire apóz o tratamento acima descrito um poder dissolvente, em média, 6 vezes mais intenso, o que o torna praticamente utilizavel para a saturação dos receptores globulares. O soro homolitico aprezenta, comparativamente ao normal, um poder toxico muito mais acentuado. Com uma inoculação de 2 a 3 cc. delle, por via endovenoza, se consegue matar um frango de 600 gramas em menos de 12 horas ; ao passo que, com o soro normal, o mesmo rezultado só é obtido com dózes de 6 a 8 cc. Nos animais, que sucumbem á ação do soro, é muito patente a aglutinação e a dissolução das hematias ; esta tanto mais vizivel, quanto mais demörada fôr a morte do animal.

Agora, vejamos os animais inoculados com espiroquetes : dividem-se estes em dois grupos ; porém, em cada um, só foi levado a cabo a imunização de um animal ; os demais, muito novos ainda e pouco rezistentes, sucumbiram ou foram abandonados durante a imunização em consequencia das fortes reações, provocadas pelas inoculações com grandes quantidades de sangue com espiroquetes.

A imunização com sangue infetado foi feita por via subcutanea, recebendo os animais de cada vez 50 cc. de sangue desfibrinado, que era obtido pela sangria de diversas galinhas doentes, no decurso do 4.° a 5.° dia da molestia, quando são muito abundantes no seu sangue os parazitos. Essas galinhas eram infetadas pela inoculação do sangue de um frango que adquirira a molestia pela picada de *argas*.

Tanto o animal, simplesmente inoculado com sangue infetado, sem preparo algum, como aquelle, em que os globulos eram saturados pelas hemolizinas, receberam, cada um, a mesma quantidade de sangue, 250 cc., em 5 inoculações, espaçadas por cerca de 4 mezes. Foram assim, tanto quanto possivel, colocados nas mesmas condições.

einer 5 % Suspension in physiologischer Lösung (0,85 % Na. Cl.). Nach der oben beschriebenen Behandlung erwirbt es ein, im Mittel, sechsmal stärkeres Auflösungsvermögen, wodurch es für die Sättigung der Blutkörperchenrezeptoren praktisch brauchbar wird. Mit dem normalen verglichen, bietet das hämolytische Serum viel ausgesprochenere toxische Eigenschaften. Die intravenöse Einführung von 2—3 cbcm. desselben führt den Tod eines Huhnes von 600 Gramm in weniger als 12 Stunden herbei, während zur Erreichung desselben Effectes 6—8 cc. von normalem Serum nötig sind. Bei den Tieren, welche der Serumwirkung erliegen, ist die Agglutination und Auflösung der Hämatien sehr evident, letztere um so mehr, je länger sich der Tod des Tieres verzögert.

Gehen wir jetzt zu den mit Spirochäten geimpften Tieren über, so teilen sich dieselben in zwei Grupen ; doch wurde in jeder derselben nur bei einem Tiere die Immunität zu Ende geführt. Die anderen, welche noch sehr jung oder wenig widerstandfähig waren, erlagen oder wurden während der Immunisierung aufgegeben, weil die Einspritzung gröserer Mengen spirochätenhaltigen Blutes starke Reaktionen hervorrief.

Die Immunisierung mit infiziertem Blute geschah auf subkutanem Wege, indem jedes Tier auf einmal ca. 50 cbcm. defibrinierten Blutes, welches verschiedenen Hühnern entnommen wurde und zwar am vierten bis fünften Krankheitstage, da alsdann die Spirochäten im Blute sehr zahlreich sind. Diese Hühner waren durch Einspritzung von Blut eines in Folge des Bisses von Argaszecken erkrankten Hühnchens infiziert worden.

Sowohl das Tier, dem ohne weiteren Zusatz nur infiziertes Blut eingespritzt wurde, wie dasjenige bei dem die Blutkörperchenrezeptoren durch Hämolysin gesättigt worden waren, erhielten jedes 250 cbcm. in 5 Einspritzungen, welche über 4 Monate verteilt waren. So befanden sie sich, soviel wie möglich, in gleichen Verhältnissen.

Assim, a cabra inoculada com o sangue infetado, não preparado, que nós designaremos pelas letras B. S., recebeu, de cada vez, a quantidade de sangue desfibrinado, acima mencionada, sem preparo algum.

Muito diversa foi a tecnica, empregada na cabra D. S., em que procuramos obter o soro, antiespiroquetico, porém não dotado de propriedades hemoliticas. Este animal recebeu, durante o periodo em que esteve submettido á imunização, a mesma quantidade de sangue, que o precedente. isto é, 250 cc. em 5 injeções ; apenas o material, neste cazo, só era inoculado, depois de se ter completamente saturado os receptores dos globulos vermelhos, nelle existentes.

A tecnica empregada para obter a completa saturação dos receptores foi a seguinte: Tomavamos a quantidade de sangue, com espiroquetes, a injetar (50 cc.) e a ella juntavamos uma doze de soro hemolitico fresco, 5 vezes superior á necessaria para dissolver completamente os globulos ; pois é sabido que existe grande diferença entre a quantidade de hemolizina, necessaria para dissolver completamente um certo numero de globulos, e a suficiente para saturar completamente os receptores delles. Essa mistura de sangue infetado e soro hemolitico era colocada na estufa a 37° durante 2 horas. No fim deste prazo, nós procuravamos verificar, se na mistura havia ainda hemolizinas livres, indicando portanto a completa saturação dos recpetores globulares. Para isso tomavamos uma pequena quantidade, 0,05 cc., da mistura em questão e a juntavamos a uma suspensão a 5 % de globulos de galinha, em prezença de 0,1 cc. de soro normal fresco de cabra, como fornecedor de alexina. Se os globulos eram dissolvidos apóz cerca de $^1/_2$ hora de estufa a 37, era sinal de que, na mistura de sangue de galinha infetada com espiroquetes e soro de cabra hemolitico para galinha, todos os receptores globulares estavam saturados e ainda havia um excesso de hemolizinas livres. Quando,

So erhielt die mit dem hämolytischen Blutte, ohne Zusatz, behandelten Ziege, die ich mit den Buchstaben B. S. bezeichne, jedesmal das oben angegebene Quantum defibrinierten Blutes ohne Vorbereitung

Sehr verschieden war dagegen die befolgte Technik bei der Ziege D. S., bei welcher ich ein Antispirochäten Serum ohne hämolytische Eigenschaften zu erhalten suchte. Dieses Tier erhielt in der Zeit, während welcher es der Immunisation unterworfen wurde, dieselbe Blutmenge, wie das vorhergehende, nämlich 250 cbm., in 5 Injektionen ; nur wurde das Material, in diesem Falle erst eingespritzt, nachdem die in demselben enthaltenen Rezeptoren der roten Blutkörperchen vollkommen gesättigt waren.

Um die vollständige Sättigung der Rezeptoren herbeizuführen, befolgte ich folgendes Verfahren: Ich nahm das zur Einspritzung bestimmte Quantum spirochätenhaltigen Blutes (50 Cbcm.) und setzte demselben das hämolytische Serum und zwar in einer fünfmal grösseren Menge, als zur vollständigen Lösung der roten Blutkörperchen nötig war. Man weiss ja, dass zwischen der Hämolysinmenge, welche zur vollständigen Auflösung einer bestimmten Zahl von Blutkörperchen nötig ist, und derjenigen, welche zur vollständigen Sättigung der Rezeptoren genügt, ein grosser Unterschied besteht. Diese Mischung von infiziertem Blute und hämolytischem Serum wurde 2 Stunden in einem Brutschranke bei 37 Grad gehalten. Nach Ablauf dieser Zeit versuchte ich festzustellen, ob in der Mischung noch freie Hämolysine existierten, was eine vollständige Sättigung der Blutkörperchenrezeptoren anzeigen musste. Zu diesem Zwecke nahm ich von der fraglichen Mischung eine kleine Menge, 0,05 cc., und mischte sie mit einer 5 % Suspension von Hühnerblutkörperchen, in Gegenwart von 0,1 Cbcm. frischen Ziegenblutes, welches das Alexin lieferte. Wurden die Blutkörperchen binnen einer halben Stunde im Brutschranke aufgelöst, so zeigte dies, dass in der Mischung von Spirochäten, Hühnerblut und für das

porém, a mistura se mostrava incapaz de dissolver novos globulos (indicando a auzencia de amboceptores hemoliticos livres), juntava-se nova quantidade de soro hemolitico e faziam-se as mesmas verificações, quanto á prezença de hemolizinas, depois de novo periodo de 1 hora na estufa. Algumas vezes, foi precizo recorrer á quantidade de soro hemolitico, 10 vezes superior á necessaria, para dissolver completamente os globulos.

Somente, quando, na mistura de globulos, espiroquetes e soro hemolitico, nós verificamos a prezença do excesso de hemolizinas livres, é, que a injetavamos no animal.

Apezar de introduzirmos, por esse modo, de cada vez, no organismo do animal, submettido á imunização, uma certa quantidade de hemolizinas livres, a imunização passiva, que adquiria o animal por conta da inoculação dessas hemolizinas, era bastante insignificante e della não restavam vestijios por ocazião das sangrias, feitas 12 a 15 dias depois a injeção da mistura de sangue com espiroquetes e soro hemolitico; sendo portanto esse prazo suficiente para fazer dezaparecer do organismo as hemolizinas livres, estranhas, nelle injetadas.

Esta tecnica de supersaturação dos receptores globulares (que julgamos a que deve ser empregada em todas as imunizações contra germens não cultivaveis) nos conduziu ao mais completo rezultado. O soro da cabra D. S., apóz o prazo necessario para a imunização, não aprezentava, sob o ponto de vista hemolitico, propriedades toxicas, superiores ás que tem normalmente o soro de cabra para os globulos de galinha, e, no ponto de vista terapeutico, nenhuma diferença mostrava em comparação ao da cabra B. S., sómente inoculada com o sangue infetado não preparado.

Assim, anteriormente á imunização, o soro da cabra D. S. dissolvida 2 cc. de uma suspensão, a 5 % de globulos de galinha, na dóze de 0,24 cc.; esse poder hemolitico

letztere lytisch wirkendem Ziegenblute alle Rezeptoren gesättigt waren und noch ein Ueberschuss von freiem Hämolysin existierte. Zeigte sich dagegen die Mischung unfähig, in Folge Abwesenheit freier hämolytischer Ambozeptoren, neue Blutkörperchen aufzulösen, so fügte ich ein neues Quantum hämolytischen Serums hinzu und machte, nach weiterem einstündigem Aufenthalte im Brutschrank, eine neue Bestimmung. Einige Male war es nötig, eine Dosis hämolytischen Serums anzuwenden, welche zehnmal mehr betrug, als das zur vollständigen Lösung der roten Blutkörperchen nötige. Erst, wenn ich in der Mischung von Blutkörperchen, Spirochäten und hämolytischem Serum die Gegenwart eines Ueberschusses von freiem Hämolysin festgestellt hatte, wurde diesselbe dem Tiere eingespritzt.

Obgleich ich auf diese Weise jedesmal eine gewisse Menge von freien Hämolysinen in den Organismus des zu immunisierenden Tieres einführte, so war doch die passive Immunisation, welche das Tier durch dieselbe erfuhr, ziemlich gering und es zeigte sich von derselben bei den 12—15 Tage später gemachten Aderlässen keine Spur mehr, so dass diese Frist genügt, um die injizierten Hämolysine aus dem Organismus verschwinden zu lassen.

Diese Technik der Uebersättigung der Globularrezeptoren, von der ich glaube, dass sie bei allen Immunisationen gegen nicht kultivierbare Keime gebraucht werden sollte, führte zu einem vollen Erfolge. Nach der zur Immunisierung nötigen Frist, zeigte das Serum der Ziege D. S. in Beziehung auf Hämolyse nicht ausgesprochenere Giftwirkungen, als sie das Ziegenserum normalerweise für Hühnerblutkörperchen zeigt und andererseits in therapeutischer Hinsicht keinen Unterschied beim Vergleiche mit demjenigen der Ziege B. S., welche nur mit infiziertem Blute ohne Zusatz behandelt worden war.

So löste vor der Immunisierung das Serum der Ziege D. S. 2 Cc. einer 5%igen Suspension von Hühnerblutkörperchen in der Dose von 0,24 Cc.;

não aprezentou alteração alguma, quer durante, quer apóz o tratamento. Empregado *in vivo* por via intravenoza, o soro desse animal só se mostrou toxico, para um frango de cerca de 600 gramas, na dóze de 6 a 8 cc., comportando-se assim, como o soro normal de cabra, ao passo, que o soro da cabra B. S., sómente inoculada com o sangue infetado mas não preparado já se mostrava toxico para um animal do mesmo pezo, na dóze de 2 a 3 cc. Injetando-se o soro da cabra D. S., na dóze de 10 cc., por via subcutanea, a um frango de 600 gramas, não se notava nenhuma alteração sensivel na quota globular, ao passo, que os animais inoculados com o soro da cabra B. S., perdiam, apóz uma identica injeção, em 24 horas, na media, 2 milhões de globulos vermelhos por milimetro cubico, devido ao forte poder toxico dess esoro.

São particularmente interessantes, a este respeito, e muito demonstrativos tambem, os rezultados das inoculações intravenozas, feitas com as duas especies de soro, empregando-os no tratamento da infeção, 6 e 18 horas apóz a injeção do germen, e, uzando respectivamente para combatel-a, as dózes de 3 e 5 cc. de soro das cabras B. S. e D. S.

Nestas experiencias, ao passo que os animais tratados com o soro da cabra D. S., não só suportavam perfeitamente as inoculações, como não aprezentavam manifestação alguma da molestia, os tratados, nas mesmas condições, com o soro da cabra B. S. sucumbiram todos ás consequencias da inoculação do soro desse animal, em prazo que ocilou entre 15 minutos e 5 horas (Serie de experiencias expostas nos quadros M. e N.)

Agora, comparemos o valor dos dois soros sob o ponto de vista terapeutico.

Para isso empregamos os dois soros nas mesmas dózes, quer, preventivamente, 24 horas antes da infeção, quer ao mesmo tempo que ella, quer, depois della, até 24 horas apóz a infeção. Estas expe-

dieses hämolytische Vermögen zeigte weder während, noch nach der Behandlung irgend welche Veränderung. In vivo und intrevenös angewandt, zeigte sich dieses Serum für ein Huhn von ca. 600 Gramm erst in einer Dose von 6—8 Cc. toxisch und verhielt sich demgemäss wie normales Ziegenserum, während das Serum der Ziege B. S., die nur mit infiziertem Blute ohne Zusatz geimpft war, sich schon in der Dosis von 2—3 Cc. für ein Tier desselben Gewichtes toxisch zeigte. Injizierte ich 10 Cc. Serum von der Ziege D. S. unter die Haut eines Huhnes von 600 Gramm, so beobachtete man keine deutliche Veränderung in der Zahl der roten Blutkörperchen, während die Tiere, denen Serum der Ziege B. S. eingespritzt wurde, in Folge der hohen Toxicität dieses Serums, schon nach einer Injektion im Mittel 2 Millionen roter Blutkörperchen per Kubikmillimeter einbüssten.

Sehr interessant und demonstrativ sind in dieser Hinsicht auch die Resultate der intravenösen Injektionen, beider Serumarten, welche 6—18 Stunden nach Einspritzung der Keime gemacht wurden; dabei kamen für die Behandlung Dosen von 3 und 5 Ccm. des Serums der Ziegen B. S. und D. S. zur Anwendung.

Während bei diesen Versuchen die mit Serum von Ziege D. S. behandelten Tiere nicht nur die Einspritzungen sehr gut ertrugen, sondern auch überhaupt keine Krankheitserscheinungen darboten, erlagen die in derselben Weise mit Serum von Ziege B. S. behandelten alle den Folgen der Serumeinspritzung und zwar innerhalb einer Frist, die zwischen 15 Minuten und 5 Stunden schwankte. (S. die in Tabellen M und N aufgeführten Versuchsreihen).

Gehen wir jetzt zu dem Vergleiche beider Sera in ihrer therapeutischen Wirkung über. Hier wandte ich die beiden Sera in derselben Dosis an und zwar teils präventiv 24 Stunden vor der Infektion, teils gleichzeitig mit derselben, teils—bis zu 24 Stunden—nach derselben. Diese in zahlreichen Serien und jeweilen an einer grösseren Zahl von Tieren vorgenommenen

riencias feitas em numerozas series e, cada vez, em grande numero de animais, constam dos quadros A a L e demonstram que, sob o ponto de vista, quer curativo, quer preventivo, o valor dos dois soros se mostrou identico, não influindo, portanto, o processo de saturação dos receptores globulares sobre o rezultado da imunização. Nos animais, tratados com dózes elevadas de soro da cabra B. S., foi sempre muito notavel a anemia, proveniente do seu poder toxico para os globulos vermelhos.

Tambem identica se mostrou a ação dos dois soros *in vitro*, ao cabo de meia hora os espiroquetes eram por elles imobilizados sem, comtudo, aprezentarem sinal algum de bacteriolize. Qualquer dos soros, empregados em prazo superior a 24 horas apóz a infeção (de 30 horas em diante), se mostrou sempre ineficaz, mesmo utilizado em dózes elevadas, quer por via subcutanea, quer por intravenoza, (até 40 cc. da cabra D. S.). Como está provado por trabalho de Levaditi (1904), que a partir de 24 horas os espiroquetes, inoculados no animal, começam a aparecer no sangue periterico, parece ser lojico admittir, em avista dos rezultados obtidos até esse prazo, que o soro só atua, emquanto os espiroquetes se acham nas grandes visceras. Tendo sido as series de animais, tratados apóz 24 horas de infeção, sempre negativas, deixamos de as mencionar em detalhe no prezente trabalho.

Do exposto até aqui, nos parece ficar absolutamente provada a possibilidade da obtenção de soros, a todo o ponto de vista eficazes, no tratamento das molestias, produzidas por germens não cultivaveis, e, ao mesmo tempo, completamente destituidos de propriedades hemoliticos, decorrentes do processo da imunização. Diante dos rezultados obtidos nada se opõe a que á mesma tecnica, que empregamos, seja dado o mais largo uzo na soroterapia das molestias, produzidas por germens não cultivaveis, ampliando-a ás numerozas outras infeções do mesmo genero, contra os quais,

Versuche sind aus den Tabellen A bis L ersichtlich und beweisen den übereinstimmenden Wert beider Sera, sowohl für die Vorbeugung als für die Bekämpfung der Krankheit, so dass der Prozess der Sättigung der Rezeptoren der Blutkörperchen das Resultat der Immunisation nicht beeinflusst. Bei den mit Serum der Ziege B. S. in hohen Dosen behandelten Tieren war die Anämie als Folge seiner Giftigkeit für die roten Blutkörperchen immer sehr auffallend.

Die Wirkung der beiden Sera zeigte sich auch *in vitro* als gleichwertig; nach einer halben Stunde waren die Spirochäten durch ihre Wirkung unbeweglich geworden, ohne jedoch anzeichen von Bakteriolyse zu bieten. Mehr wie 24 Stunden nach der Infektion (von 30 Stunden an) zeigte sich die Anwendung beider Sera immer wirkungslos, sei es, dass sie subkutan, sei es, dass sie intravenös in hohen Dosen (bei Ziege D. S. bis zu 40 Ccm.) angewandt wurden. Da aus der Arbeit von Levaditi (1904) feststeht, dass eingeimpfte Spirochäten schon nach 24 Stunden im peripherischen Blute der Tiere aufzutreten beginnen, so scheint es, mit Rücksicht auf die bis zu dieser Frist erzielten Erfolge, logisch anzunehmen, dass das Serum nur wirkt, so lange sich die Spirochäten in den Zentralorganen aufhalten. Da die Resultate der Behandlung nach mehr wie 24stündiger Frist seit der Infektion immer negativ waren, unterlasse ich ihre nähere Anführung in dieser Arbeit.

Durch das eben auseinandergesetzte scheint mir unzweifelhaft erwiesen, dass man Sera herstellen kann, welche bei der Behandlung von durch unkultivierbare Keime hervorgerufenen Krankheiten in jeder Hinsicht wirksam und zugleich frei von solchen hämolytischen Wirkungen sind, wie sie durch den Immunisationsprozess hervorgerufen werden. Mit Hinsicht auf diese Resultate liegt kein Grund vor, warum nicht dieselbe Technik in ausgedehnter Weise bei der Serotherapie anderer durch unkultivirbare Keime hervorgerufenen Infektionem benützt werden

até agora, a soroterapia tem estado impotente, devido aos perigos decorrentes do processo de imunização a empregar.

Por outro lado, o nosso trabalho deixa patente o valor da soroterapia na espiroquetoze das galinhas e a possibilidade de, por meio della, não só se poder segura mente prevenir a molestia, como cural-a, até ao periodo de 24 horas apóz a infeção, o que, sob o ponto de vista pratico, tem uma grande utilidade, permitindo que, aos primeiros cazos de infeção em um galinheiro, se ponha a salvo os animais, que ainda se acharem em periodo de incubação do mal.

II

VACINAÇÃO NA ESPIROQUETOZE DAS GALINHAS.

A obtenção de uma vacina contra a espiroquetoze das galinhas tem grande alcance sob o ponto de vista pratico, pois oferece um meio, de se evitar as destruidoras epizootias, tão comuns nos galinheiros, em que existem *argas* infetados e onde tão dificil é a completa destruição, desses acarianos. Essas epizootias se reproduzem a cada nova introdução nesses galinheiros, de aves, vindas de zonas, onde não existe a infeção, e que portanto não gozam de imunidade, adquirida a custa de um ataque anterior não mortal da molestia. Acontecendo que a espiroquetoze das galinhas confere aos animais, que della escapam, notavel imunidade, muito fundadas eram as nossas esperanças de que, introduzindo no organismo de animais não imunes o virus sob uma forma atenuada ou morta, pudessemos obter uma vacina eficaz contra ella.

Naturalmente, aqui, como na soroterapia, se impunha o emprego do sangue de animais infetados, como material para o preparo da vacina.

Morrendo o germen ao cabo de poucos dias no sangue desfibrinado, a primeira idea que vem é a de se empregar esse sangue contendo os germens mortos para a sollte, wo sich die Wissenschaft wegen der durch die Immunisation veranlassten Gefahren bisher ohnmächtig gezeigt hat.

Auf der anderen Seite erweist meine Arbeit den Wert der Serotherapie bei der Hühnerspirochätose und die Möglichkeit durch jene nicht nur der Krankheit mit Sicherheit vorzubeugen, sondern sie auch bis 24 Stunden nach der Infektion zur Heilung zu bringen, was praktisch von grossem Werte ist, da es so möglich wird, beim ersten Auftreten der Infektion in einem Hühnerstalle alle Tiere zu retten, die sich noch im Inkubationsstadium der Krankheit befinden.

II

VACCINATION BEI DER HÜHNERSPIROCHÄTOSE.

Die Herstellung einer Vaccine gegen die Hühnerspirochätose hat einen grossen praktischen Wert, da sie uns ein Mittel zur Verhütung verheerender Epizootien bietet, wie sie so häufig in Hühnerhöfen sind, wo infizierte Argas vorkommen, deren vollständige Ausrottung sehr schwierig ist. Diese Seuchen wiederholen sich jedes Mal, wenn in solche Hühnerhöfe Tiere gebracht werden, welche aus infektionsfreien Zonen stammen und deshalb nicht die Immunität besitzen, wie sie durch einen früher überstandenen Anfall der Krankheit verliehen wird. Da die Hühnerspirochätose den Tieren, welche sie überstanden haben, eine ausgesprochene Immunität verleiht, so hatte ich sehr begründete Hoffnungen, eine wirksame Vaccine gegen dieselbe zu erzielen, wenn ich das Virus in abgeschwächter oder toter Form in den Organismus nicht immuner Tiere einführte.

Wie bei der Serumtherapie ergab sich auch hier die Anwendung des Blutes infizierter Tiere von selbst als Material für die Herstellung der Vaccine.

Da der Keim im defibrinierten Blute nach wenigen Tagen abstirbt, si liegt der Gedanke nahe, solches Blut mit den darin enthaltenen toten Keimen bei der Impfung

vacinação. Ocorre porém, aqui uma grande dificuldade que é a de se obter, em grandes quantidades, sangue desfibrinado, completamente asetico, nos animais infetados.

Em prezença desta dificuldade, rezolvemos recorrer á esterilização do sangue, colhido, com a possivel asepsia, nos animais infetados. Depois de algumas tentativas com diferentes ajentes fizicos e quimicos: calor, cloroformio, toluol, formol, chegamos á concluzão, de que o formol nos oferecia as maiores vantajens, permitindonos obter uma vacina com as condições dezejadas e cuja tecnica de preparo passamos a expôr.

Com o sangue de um animal infetado por argas, inoculam-se diversas galinhas (pelo menos 10) e no 5.° dia da infeção, quando o exame de sangue revela a prezença de numerozos espiroquetes, procede-se á retirada delle. Para isso o pescoço dos animais infetados é previamente depenado, com todo o cuidado, lavado com uma solução de lizol a 5 %, depois, com agua fiziolojica e finalmente enxuto com algodão asetico. Uma vez feita a asepsia da rejião, cortam-se por meio de um bisturi, esterilizado e bem afiado, os vazos da rejioã lateral do pescoço, junto á cabeça, tendo o cuidado de não atinjìr os condutos alimentar e respiratorio, evitando, assim, que o sàngue se contamine fortemente.

Secionados os vazos do pescoço, o sangue, que delles corre, é recebido em um balão de vidro esterilizado, de capacidade de 300 gramas, em cujo interior foram colocadas pequenas esferas de porcelana, destinadas a desfibrinação, e a cujo gargalo se adapta um pequeno funil de vidro, tambem esterilizado, para maior facilidade da recepção do sangue no interior do balão.

Logo que o sangue cessa de correr abundantemente da ferida e começa a gotejar, interrompe-se a sangria, tapando-se o gargalo do balão com uma mecha de algodão testeril e se ajita rapidamente o sangue até se obter completa desfibrinação delle. Uma vez desfibrinado, o sangue é passado para um balão esterilizado, no qual se vão reunindo as quantidades que

zu verwenden. Jedoch begegnet man hier der grossen Schwierigkeit der Gewinnung grösserer Mengen defibrinierten Blutes bei vollständiger Wahrung der Asepsis

Diese Schwierigkeit berücksichtigend, beschloss ich von der Sterilisation des möglichst aseptisch den infizierten Tieren entnommenen Blutes Gebrauch zu machen. Nach einingen Versuchen der Anwendung physikalischer und chemischer Mittel: Hitze, Chloroform, Toluol und Formol ergab sich das letzteres die grössten Vorzüge, indem es mir gestattete, unter den gewünschten Bedingungen eine Vaccine zu erhalten, deren Herstellung hier erörtert werden soll.

Mit dem Blutte eines durch Argas infizierten Tieres werden wenigstens 10 Hühner geimpft und am fünften Tage der Infektion, wenn die Untersuchung das Vorhandensein zahlreicher Spirochäten im Blute erweist, wird zur Entnahme desselben geschritten. Hierfür wird der Hals der infizierten Tiere sorgfältig von Federn befreit, mit einer fünfprozentigen Lysollösung und dann mit physiologischer Lösumg gewaschen und endlich mit Bäuschchen aseptischer Watte getrocknet. Nachdem die Asepsis der Region beendet ist, werden mittelst sterilen und sehr scharfen Bistouris, die Gefässe der seitlichen Halsregion nahe am Kopfe durchschnitten, wobei man Luft- und Speiseröhre sorgfältig schont und so eine stärkere Verunreinigung vermeidet.

Nach Durchschneidung der Halsgefässe wird das aus ihnen fliessende Blut in sterilisierten Ballons von 300 Gramm Gehalt aufgefangen; dieselben wurden zuvor zum Zwecke der Defibrinierung mit Porzellanschrot beschickt und in ihrem Halse befindet sich, zwecks leichteren Auffangens des Blutes, ein ebenfalls steriler Trichter.

Sobald das Blut aufhört, reichlich aus der Wunde zu fliessen und nur tröpfelt, wird der Aderlas unterbrochen, der Ballon mit einem sterilisierten Wattebausch verpfropft und das Blut lebhaft geschüttelt, bis es vollständig defibriniert ist; dann wird es

fornece cada animal, de modo que se obtem assim uma igual distribuição de germens na quantidade total de sangue. Terminada a sangria, o sangue obtido é distribuido, por meio de uma pipeta esterilizada, em vidros de boca larga, da capacidade de 125 gramas na proporção de 50 cc. para cada vidro; estes são então arrolhados com um pouco de algodão, embebido em formol, tendo-se porem o cuidado de evitar que este antisetico não escorra para dentro dos vidros, só devendo os seus vapores exercer a ação esterilizante sobre o sangue. Estes vidros permanecem assim fechados por 24 horas, sendo então o sangue delles reunido, de novo, em um balão esterilizado, simplesmente arrolhado com um pouco de algodão asetico; aqui permanece por 8 dias, tendo-se o cuidado de ajitar frequentemente o conteudo para impedir a formação de grumos. Ao cabo desse prazo o sangue é semeado em meios para cultura de aerobios e anaerobios e, uma vez verificado que nelle nenhum germen vivo existe, distribuido em tubos de capacidade de 15 cc.; estes contem 15 dózes da vacina, pois a quantidade, que empregamos na imunização, é de 1 cc. por animal, o que corresponde perfeitamente ás necessidades da pratica. O aspeto da vacina depois de promta é o de um liquido espesso de cor parda escura ou avermelhada. Os espiroquetes apresentam-se nella com a sua morphologia quasi intacta e geralmente aglomerados.

A vacina, assim preparada, submetida a variadas provas em numerozos animais, a diferentes provas em numerozos animais, tem se mostrado de poder imunizante seguro e duradouro, conservando a sua atividade normal por prazo superior a um ano apóz o seu preparo. As diferentes experiencias, á que tem sido submetida a vacina neste instituto e das quais rezulta a sua utilidade sob todos os pontos de vista, vem abaixo mencionadas nas series de experiencias expostas nos quadros O a V.

E' inutil, insistir sobre as vantajens, que na pratica o seu emprego aprezenta, oferecendo um meio seguro de pôr, nos

in einem anderen sterilisierten Ballon mit den von den anderen Tieren gewonnenen Mengen vermischt, so dass in der Gesammtblutmenge eine gleichmässige Verteilung der Keime erreicht wird. Nach vollendeter Entnahme wird das gewonnene Blut mittelst steriler Pipette auf weithalsige Gläser von 125 Gramm Inhalt verteilt, so dass jedes 50 Gramm enthält; diese werden dann mit in Formol getränkter Watte verschlossen, wobei man sorgfältig vermeidet, dass dasselbe in die Gläser läuft, da nur die Dämpfe ihre sterilisierende Wirkung auf das Blut ausüben sollen. Diese Gläser bleiben während 24 Stunden geschlossen, worauf das Blut aus denselben wieder in einem sterilisierten Ballon vereinigt und letzterer mit einem Wattepfropf verschlossen wird. Hier bleibt es 8 Tagen während welcher für öfteres Umschütteln zu sorgen ist, um die Bildung von Klümpchen zu verhüten. Am Ende dieser Zeit wird das Blut auf für gewöhnliche und anärobische Keime passende Nährböden ausgesät und nach festgestellter Abwesenheit solcher Keime auf Tuben von 15 Cc. Gehalt verteilt. Letztere enthalten 1 Vaccinedose, da die zur Immunisierung eines Tieres verwandte Menge 1 Cc. beträgt, was den Anforderungen der Praxis vollständig entspricht. Die fertige Vaccine erscheint als eine dicke, dunkelbraune oder rötlich Flüssigkeit. Die Spirochäten in derselben zeigen eine fast völlig unveränderte Form und sind gewöhnlich in Haufen vereinigt.

Die so hergestellte Vaccine wurde verschiedenen Proben bei zahlreichen Tieren unterworfen und zeigte ein zuverlässiges und anhaltendes Immunisierungsvermögen, indem sie ihre normale Wirksamkeit noch nach mehr als Jahresfrist bewahrt. Die verschiedenen Proben, welchen sie im Institute unterworfen wird und aus denen ihre Brauchbarkeit in jeder Hinsicht hervorgeht, finden sich unten in Tabellen O bis V aufgeführt.

Es ist unnötig, auf die Vorteile einzugehen, welche der Gebrauch der Vaccine in der Praxis gewährt, indem sie ein sicheres

galinheiros infetados, as aves ao abrigo da espiroquetoze, quando vacinadas antes de nelles serem introduzidas.

Ultimamente, temos nos ocupado com o preparo de uma vacina contra a espiroquetoze, substituindo ao formol a glicerina, adicionada em partes iguais ao sangue. A vacina, assim obtida e que empregamos na doze de 2 cc. para cada animal, goza igualmente de propriedades imunizantes notaveis e semelhantes á da vacina preparada pelo formol; as nossas experiencias, porém, sendo de data recente, não nos fornecem ainda criterio seguro sobre a duração e a conservação do seu poder imunizante. A vacina, preparada pelo formol, como pela glicerina, nós a temos até agora empregada por via subcutanea; julgamos, que nos galinheiros infetados, uma só vacinação, basta porquanto a picada dos *argas* infetados só tornará a imunidade mais solida, sendo obsolutamente desnecesaria qualquer nova inoculação da vacina. Quanto aos galinheiros não infetados (em que a vacinação fôr feita com o fim de garantir os animais contra as probabilidades da importação da infeção), nelles a revacinação não deverá ser feita antes de um ano, pois as experiencias demonstram que a vacina confere imunidade suficiente até esse prazo. A inoculação da vacina nenhum perigo oferece para os animais, ainda mesmo quando muito novos ou enfraquecidos por uma cauza qualquer.

Aqui encerramos a expozição dos nossos rezultados sobre a vacinação contra o espiroquetoze, cujo emprego nos parece de todo o ponto recomendavel, como um dos meios mais praticos para se obter a profilaxia da dezimadora epizootia, tão comum entre nós. A mesma tecnica que usamos se recommenda, egualmente ao nosso ver, para o preparo de vacinas para as demais espiroquetozes como a Tick fever, a febre recurrente etc.

Manguinhos, Outubro de 1910.

Mittel bietet, um die Vögel in einem infizierten Hüherhofe vor der Spirochätose zu schützen, wenn man sie vor dem Einbringen in denselben impft.

Neuerdings habe ich mich mit der Herstellung einer Vaccine befasst, in welcher das Formol durch dem Blute zu gleichen Teilen beibefügtes Glyzerin ersetzt wird. Die so erhaltene Vaccine, welche ich in der Dosis von 2 Cbcm. per Tier anwandte, besitzt ebenfalls hervorragende immunisierende Eigenschaften, wie diejenige, welche mit Formol hergestellt wurde; doch sind meine Versuche neueren Datums und gestatten mir noch kein sicheres Urteil über die Dauer und Erhaltung des Immunisierungsvermögens. Die Vaccine, sowohl die mit Formol, als auch die mit Glyzerin hergestellte, habe ich bis jetzt immer subkutan angewandt; ich halte auch eine einmalige Impfung in infizierten Hühnerhöfen für genügend, da die Bisse der infizierten Argaszecken, die Immunität nur verstärken, so dass jede weitere Vaccination unnötig ist. Bei nicht infizierten Hühnerhöfen, wo die Imfung nur zum Zwecke des Schutzes der Tiere gegen eine importierte Infektion geschieht, braucht die Revaccination nicht vor einem Jahre stattzufinden, da die Versuche zeigen, dass die Vaccination bis zu diesem Termin eine genügende Immunität verleiht. Die Einimpfung der Vaccine bildet selbst für sehr junge oder aus irgend einem Grunde geschwächte Tiere keine Gefahr.

Hier schliesse ich die Erörterung der Resultate, welche ich bei der Impfung gegen Spirochätose erhielt; die Anwendung des Verfahrens scheint mir in jeder Hinsicht empfehlenswert, als eines der brauchbarsten Mittel für die Prophylaxe der hier zu lande so häufigen und verheerenden Epizootie. Die von mir gebrauchte Technik empfiehlt sich, meines Erachtens, auch zur Herstellung von Vaccine gegen die anderen Spirochätosen, wie Tick fever, Recurrens u. s. w.

Manguinhos, Oktober 1910.

VERIFICAÇÕES FEITAS COM OS SOROS ANTIESPIROQUETICOS

Serie A

Ensaio do soro da cabra BS

(Antiespiroquetico hemolitico)

Animais tratados preventivamente 24 horas antes da infeção

ANIMAL	QUANT. DE GERMENS (INJEÇÃO SUB-CUTANEA)	QUANT. DE SORO (INJEÇÃO SUB-GUTANEA)	REZULTADO
Frango n. 1 Testemunha 680 grms.	0, 1 cc de sangue com espiroquetes.	0,5 cc soro normal de cabra.	Todos estes animaes adquiriram espiroquetoze-
Frango n. 2 520 grms.		0,1 cc soro especifico.	
Frango n. 3 650 grms.		0,1 cc soro especifico.	
Frango n. 4 570 grms.		0,2 cc soro especifico.	
Frango n. 5 570 grms.		0,2 cc. soro especifico.	
Frango n. 6 570 grms.		0,5 cc soro especifico.	Nenhum destes animaes apresentou manifestações da infecção espiroquetica.
Frango, n. 7 515 grms.			
Frango n. 8 610 grms.			
Frango n. 9 640 grms.			
Frango n. 10 630 grms.		1 cc soro especifico.	

VERSUCHE MIT DEN ZWEI HERGESTELLTEN ARTEN VON SERUM GEGEN SPIROCHAETOSIS

Serie A

Versuche mit Serum von Ziege BS

(Spirochätentötendes und hämolytisches Serum)

24 Stunden vor der Infektion behandelte Tiere

TIER	DOSIS DES VIRUS (SUBKUTANE INJECTION)	DOSIS DES SERUMS (SUBKUTANE INJECTION)	RESULTAT
Huhn n. 1 Zeuge 680 grms.	0,1 cc. Blut mit spirochäten.	0,5 cc normales Ziegenserum.	Alle diese Tiere erkrankten an Spirochätose
Huhn n. 2 520 grms.		0,1 cc spezifisches Serum.	
Huhn n. 3 650 grms.		0,1 cc spezifiches Serum.	
Huhn n. 4 570 grms.		0,2 cc spezifisches Serum.	
Huhn n. 5 570 grms.		0,2 cc spezifisches Serum.	
Huhn n. 6 570 grms.		0,5 cc spezifisches Serum.	Keines der Tiere zeigt Erscheindngen von Spirochätose.
Huhn n. 7 515 grms.			
Huhu n. 8 610 grms.			
Huhn n. 9 640 grms.			
Huhn n. 10 630 grms.		1 cc spezifisches Serum.	

Serie B

Ensaio do soro da cabra BS

(Antiespiroquetico hemolitico)

Animais tratados pelo soro e ao mesmo tempo infetados

ANIMAL	QUANT. DE GERMENS (INJEÇÃO SUB-CUTANEA)	QUANT. DE SORO (INJEÇÃO SUB CUTANEA)	REZULTADO
Frango n. 1 Testemunha 690 grms.	0,1 cc de sangue com espiroquetes.	1, cc soro normal de cabra.	Todos estes animais adquiriram espiroquetoze.
Frango n. 2 640 grms.		0,2 cc soro especifico.	
Frango n. 3 600 grms.		0,5 cc soro especifico.	
Frango n. 4 580 grms.		0,5 cc soro especifico.	
Fran5o n. 5 610 grms.		1 cc soro especifico.	Nenhum destes animals manifestações da infeção espiroquetica.
Frango n. 6 575 grms.			
Frango n. 7 610 grms.			
Frango n. 8 600 grms.			
Frango n. 9 680 grms.			
Frango n. 10 700 grms.			

Serie B

Versuche mit Serum von Ziege B S

(Spirochätentötendes und hämolytisches Serum)

Gleichzeitig infizierte und mit Serum behandelte Tiere

TIER	DOSIS DES VIRUS (SUBKUTANE INJEKTION)	DOSIS DES SERUMS (SUBKUTANE INJEKTION)	RESULTAT
Huhn n. 1 Zeuge 690 grms.	0,1 cc Blut mit Spirochäten.	1 cc normales Ziegenserum.	Alle diese Tiere erkrankten an Spirochätose.
Huhn n. 2 640 grms.		0,2 cc spezifiseh Serum.	
Huhn n. 3 600 grms.		0,5 cc spezifisches Serum.	
Huhn n. 4 580 grms.		0,5 cc spezifisches Serum.	
Huhn n. 5 610 grms.		1 cc spezifisches Serum.	Keines der Tiere zeigt Erscheinungen von Spirochätose.
Huhn n. 6 575 grms.			
Huhn n. 7 610 grms.			
Huhn n. 8 600 grms.			
Huhn n. 9 680 grms.			
Huhn n. 10 700 grms.			

Serie C.

Ensaios do soro da cabra BS

(Antiespiroquetico hemolitico)

Animais tratados 6 horas apóz a infeção

ANIMAL	QUANT. DE GERMENS (INJEÇÃO SUB-CUTANEA)	QUANT. DE SORO (INJEÇÃO SUB-CUTANEA)	REZULTADO
Frango n. 1 Testemunha 720 grms.	0,1 cc de sangue com espiroquetes.	3 cc soro normal de cabra.	Todos estes animais adquiriram espiroquetoze.
Frango n. 2 750 grms.		1 cc soro especifico.	
Frango n. 3 715 grms.		2 cc soro especifico.	
Frango n. 4 690 grms.		3 cc soro especifio.	Nenhum destes animais apresentou manifestações da infeção espiroquetica.
Frango n. 5 645 grms.			
Frango n. 6 600 grms.			
Frango n. 7 700 grms.			
Frango n. 8 675 grms.			

Serie C.

Versuche mit Serum von Ziege BS

(Spirochätentötendes und hämolytisches Serum)

6 Stunden nach der Infektion behandelte Tiere

TIER	DOSIS DES VIRUS (SUBKUTANE INJEKTION)	DOSIS DES SERUMS (SUBKUTANE INJEKTION)	RESULTAT
Huhn n. 1 Zeuge. 720 grms.	0,1 cc Blut mit Spirochäten.	3 cc normales Ziegenserum.	Alle diese Tiere erkrankten an Spirochätose.
Huhn n. 2 720 grms.		1 cc spezifisches Serum.	
Huhn n. 3 715 grms.		2 cc spezifisches Serum.	
Huhn n. 4 690 grms.		3 cc spezifisches Serum.	Keines der Tiere zeigt Erscheinungen von Spirochätose.
Huhn n. 5 645 grms.			
Huhn n. 6 600 grms.			
Huhn n. 7 700 grms.			
Huhn n. 8 675 grms.			

Serie D

Ensaios do soro da cabra BS

(Antiespiroquetico hemolitico)

Animais tratados 18 horas apóz a infeção

ANIMAL	QUANT. DE GERMENS (INJEÇÃO SUB-CUTANEA)	QUANT. DE SORO (INJEÇÃO SUB-CUTANEA)	REZULTADO
Frango n. 1 Testemunha 820 grms.	0,1 cc de saugue com espiroquetes:	5 cc soro normal de cabra.	Todos estes animaes adquiriram espiroquetoze.
Frango n. 2 800 grms.		3 cc soro especifico.	
Frango n 3 810 grms.		4 cc soro especifico.	
Frango n. 4 765 grms.		5 cc soro especifico	Nenhum destes animaes apresentou manifestações da infecção espiroquetica.
Frango n. 5 780 grms.			
Frango n. 6 735 grms.			
Frango n. 7 655 grms.			
Frango n. 8 735 grms.			

Serie D

Versuche mit Serum von Ziege BS

(Spirochätentötendes und hämolytisches Serum)

18 Stunden nach der Infektion behandelte Tiere

TIER	DOSIS DES VIRUS (SUBKUTANE INJEKTION)	DOSIS DES SERUMS (SUBKUTANE INJEKTION)	RESULTAT
Huhn n. 1 Zeuge 820 grms.	0,1 cc Blut mit Spirochäten.	5 cc normales Ziegenserum.	Alle diese Tiere erkrankten an Spirochätose.
Huhn n. 2 800 grms.		3 cc spezifisches Serum.	
Huhn n. 3 810 grms.		4 cc spezifisches Serum.	
Huhn n. 4 765 grms.		5 cc spezifisches Serum.	Keines der Tiere zeigt Erscheinungen von Spirochätose.
Huhn n 5 780 grms.			
Huhn n. 6 735 grms.			
Huhn n. 7 655 grms.			
Huhn n. 8 735 grms.			

Serie E

Ensaio do soro de cabra BS

(Antiespiroquetico hemolitico)

Animais tratados 24 horas apóz a infeção

ANIMAL	QUANT. DE GERMENS (INJEÇÃO SUB-CUTANEA)	QUANT. DE SORO (INJECÇÃO SUB-CUTANEA)	REZULTADO
Frango n. 1 Testemunha 690 grms.	0,1 cc de sangue com espiroquetes.	10 cc soro normal de cabra.	Todos estes animais adquiriram espiroquetoze.
Frango n. 2 700 grms.		5 cc soro especifico.	
Frango n. 3 680 grms.		8 cc soro especifico.	
Frango n, 4 645 grms.		10 cc soro especifico.	Nenhum destes animais apresentou manifestações de infecção espiroquetica.
Frango n. 5 645 grms.			
Frango n. 6 700 grms.			
Frango n. 7 570 grms,			
Frango n. 8 590 grms.			

Serie E

Versuche mit serum von Ziege BS

(Spirochätentötendes und hämolytisches Serum

24 Stunden nach der Infektion behandelte Tiere

TIER	DOSIS DES VIRUS (SUBKUTANE IUJEKTION)	DOSIS DES SERUMS (SUBKUTANE INJEKTION)	RESULTAT
Huhn n. 1 Zeuge 690 grms.	0,1 cc Blut mit Spirochäten.	10 cc normales Ziegenserum.	Alle diese Tiere erkrankten an Spirochätose.
Huhn n. 2 700 grms.		5 cc spezifisches serum.	
Huhn n. 3 680 grms.		8 cc spezifisches serum.	
Huhn n. 4 645 grms.		10 cc spezifisches Serum.	Keines der Tiere zeigt Esscheinung von Spirochätose.
Huhn n. 5 645 grms.			
Huhn n. 6 700 grms.			
Huhn n. 7 570 grms.			
Huhn n. 8 590 grms.			

Serie F

Ensaio do soro da cabra BS

(Antiespirilico hemoquetico)

Animais tratados 24 horas apóz a infeção

ANIMAL	QUANT. DE CERMENS (INJEÇÃO SUB-CUTANEA)	QUANT. DE SORO (INJEÇÃO SUB-CUTANEA)	REZULTADO
Frango n 1 Testemunha 680 grms.	0,1 cc de sangue com espiroquetes.	10 cc soro normal de cabra.	Todos estes animaes adquiriram espiroquetoze.
Frango n. 2 520 grms.		5 cc soro especifico.	
Frango n. 3 650 grms.		8 cc soro espeeifico.	
Frango n. 4 590 grms.		9 cc soro especifico	
Frango n. 5 570 grms.		10 cc soro especifico.	Nenhum destes animaes aprezentou manifestações da infeção espiroquetica.
Frango n. 6 515 grms.			
Frango n. 7 510 grms.			
Frango n. 8 530 grms.			
Frango n. 9 640 grms.			

Serie F

Versuche mit Serum von Ziege BS

(Spirochätentöntedes und hämolytisches Serum)

24 Studen nach der Infektion behandelt Tiere

TIER	DOSIS DES VIRUS (SUBKUTANE INJEKTION)	DOSIS DES SERUMS (SUBKUTANE INJEKTION)	REZULTAT
Huhn n. 1. Zeuge. 680 grms.	0,1 cc Blut mit Spirochätose.	10 cc normales Ziegenserum	Alle diese Tiere erkrankten an Spirochätose
Huhn n. 2 520 grms.		5 cc spezifisches Serum.	
Huhn n. 3 650 grms.		8 cc. spezofisches Serum	
Huhn n. 4 590 grms.		9 cc spezifisches Serum.	
Hnhn n. 5 570 grms.		10 cc spezifisches Serum.	Keines der Tiere zeigt Erscheimungen von Spirochätose.
Huhn n. 6 515 grms.			
Huhn n. 7 510 grms.			
Huhn n. 8 530 grms.			
Huhn n. 9 640 grms.			

Serie G

Ensaio do soro da cabra DS

(Antiespiroquetico não hemolitico)

Animais tratados preventivamente 24 horas antes da infeção

ANIMAL	QUANT. DE GERMENS (INJEÇÃO SUB-CUTANEA)	QUANT. DE SORO (INJEÇÃO SUB-CUTANEA)	REZULTADO
Frango n. 1 Testemunha 700 grms.	0,1 cc de sangue com espiroquetes.	0,5 cc soro normal de cabra.	Todos estes animaes adquiriram espiroquetoze.
Frango n. 2 575 grms.		0,1 cc soro especifico.	
Frango n. 3 715 grms.		0,1 cc soro especifico.	
Frango n. 4 690 grms.		0,2 cc soro especifico.	
Frango n. 5 640 grms.		0,2 cc soro especifico.	
Frango n. 6 615 grms.		0,5 cc soro especifico.	Nenhum destes animaes apresentou manifestações da infecção espiroquetica.
Frango n. 7 610 grms.			
Frango n. 8 700 grms.			
Frango n. 9 625 grms.			
Frango n. 10 645 grms.		1 cc soro especifico.	

Serie G

Versuche mit Serum von Ziege DS

(Nicht hämolytisches Serum gegen Spirochätose)

24 Stunden vor der Infektion behandelte Tiere

TIER	DOSIS DES VIRUS (SUBKUTANE INJEKTION)	DOSIS DES SERUMS (SUBKUTANE INJEKTION)	RESULTAT
Huhn n. 1 Zeuge 700 grms.	0,1 cc Blut mit Spirochätose.	0,5 normales Ziegenserum.	Alle diese Tiere erkrankten an Spirochätose.
Huhn n. 2 575 grms.		0,1 cc spezifisches Serum.	
Huhn n. 3 715 grms.		0,1 cc spezifisches Serum.	
Huhn n. 4 690 grms.		0,2 cc spezifisches Serum.	
Huhn n. 5 640 grms.		0,2 cc spezifisches Sernm.	
Huhn n. 6 615 grms.		0,5 cc spezifisches Serum.	Keines der Tiere zeigt Erscheinungen von Spirochätose.
Huhn n. 7 610 grms.			
Huhn n. 8 700 grms.			
Huhn n. 9 625 grms.			
Huhn n. 10 645 grms.		1 cc spezifiches Serum.	

Serie H

Ensaio do soro da cabra DS

(Antiespiroquetico não hemolitico)

Animais tratados pelo soro e ao mesmo tempo infetados

ANIMAL	QUANT. DE GERMENS (INJEÇÃO SUB-CUTANEA)	QUANT. DE SORO (INJEÇÃO SUB-CUTANEA)	REZULTADO
Frango n. 1 Testemunha 735 grms.	0,1 cc de sangue com espiroquetes.	1 cc soro normal de cabra.	Todos estes animaes adquiriram espiroquetose.
Frango n. 2 700 grms.		0,5 cc soro especifico.	
Frango n. 3 640 grms.		0,5, cc soro especifico.	
Frango n. 4 630 grms.		1 cc soro especifico.	Nenhum destes animaes apresentou manifestações da infeção espiroquetica.
Frango n. 5 710 grms.			
Frango n. 6 630 grms.			
Franga n. 7 600 grms.			
Frango n. 8 410 grms.			

Serie H

Versuche mit Serum von Ziege DS

(Nicht hämolytisches Serum gegen Spirochätose)

Gleichzeitig infizierte und mit Serum behandelte Tiere

TIER	DOSIS DE VIRUS (SUBKUTANE INJEKTION)	DOSIS DE SERUMS (SUBKUTANE INJEKTION)	RESULTAT
Huhn n. 1 Zeuge 735 grms.	0,1 cc Blut mit Spirochäten.	1 cc normales Ziegenserum.	Alle diese Tiere erkrankten an Spirochätose.
Huhn n. 2 700 grms.		0,5 cc spezifisches Serum.	
Huhn n. 3 640 grms.		0,5 cc spezifisches Serum.	
Huhn n. 4 630 grms.		1 cc espezifisches Serum.	Keines der Tiere zeigt Erscheinung von Spirochätose.
Huhn n. 5 710 grms.			
Huhn n. 6 630 grms.			
Huhn n. 7 600 grms.			
Huhn n. 8 410 grms.			

Serie I

Ensaio do soro da cabra DS

(Antiespiroquetico não hemolitico)

Animais tratados 6 horas apóz a infeção

ANIMAL	QUANT. DE GERMENS (INJEÇÃO SUB-CUTANEA)	QUANT. DE SORO (INJEÇÃO SUB-CUTANEA)	REZULTADO
Frango n. 1 Testemunha 720 grms.	0,1 cc de sangue com spiroquetes.	3 cc soro normal de cabra.	Todos estes animaes adquiriram espiroquetoze.
Frango n 2 655 grms.		1 cc soro especifico.	
Frango n. 3 680 grms.		2 cc soro especifico.	
Frango n. 4 645 grms.		3 cc soro especifico.	Nenhum destes animaes apressentou manifestações da infecção espiroquetica.
Frango n. 5 710 grms.			
Frango n. 6 625 grms.			
Frango n. 7 600 grms.			
Frango n. 8 590 grms.			

Serie I

Versuche mit Serum von Ziege DS

(Nicht hämolytisches Serum gegen Spirochätose)

6 Stunden nach der Infektion behandelte Tiere

TIER	DOSIS DES VIRUS (SUBKUTANE INJEKTION)	DOSIS DES SERUMS (SUBKUTANE INJEKTION)	RESULTAT
Huhn n. 1 Zeuge 720 grms.	0,1 cc Blut mit Spirochäten.	3 cc normales Ziegenserum.	Alle diese Tiere erkrankten an Spirochtäose.
Huhn n. 2 655 grms.		1 cc spezifisches Serum.	
Huhn n. 3 680 grms.		2 cc spezifisches Serum.	
Huhn n. 4 645 grms.		3 cc spezifisches Serum.	Keines der Tiere zeigt Erscheinuger van Spirochätose.
Huhn n. 5 710 grms.			
Huhn n. 6 625 grms			
Huhn n. 7 600 grms.			
Huhn n. 8 590 grms.			

Serse J

Ensaio do soro da cabra DS

(Antiespiroquetico não hemolitico)

Animais tratados 18 horas apóz a infeção

ANIMAL	QUANT. DE GERMENS (INJEÇÃO SUB-CUTANEA)	QUANT. DO SORO (INJEÇÃO SUB-CUTANEA)	REZULTADO
Frango n. 1 Testemunha 720 grams.	0,1 cc de sangue com espiroquetes.	5 cc soro normal de cabra.	Todos estes animaes adquiriram espiroquetoze.
Frango n. 2 680 grams.		3 cc soro especifico.	
Frango n. 3 500 grams.		4 cc soro especifico.	
Frango n. 4 650 grams.		5 cc soro especifico.	Nenhum destes animaes apresentou manifestações da infeção espiroquetica..
Frango n. 5 600 grams.			
Frango n. 6 630 grams.			
Frango n. 7 680 grams.			
Frango n. 8 610 grams.			

Serie J

Versuche mit Serum von Ziege DS

(Nicht hämolytisches Serum gegen Spirochätose)

18 Studen nach der Infektion behandelte Tiere

TIER	DOSIS DES VIRUS (SUBKUTANE INJEKTION)	DOSIS DES SERUMS (SUBKUTANE INJEKTION)	RESULTAT
Huhn n. 1 Zeuge 720 grms.	0,1 cc Blut mit Spirochäten.	5 cc normales Ziegenserum.	Alle diese Tiere erkrankten an Spirochätose.
Huhn n. 2 680 grms.		3 cc spezifisches Serum.	
Huhn n. 3 560 grms.		4 cc spezifisches Serum.	
Huhn n. 4 650 grms.		5 cc spezifisches Serum.	Keines der Tiere zeigt Erscheinungem von Spirochätose.
Huhn n. 5 600 grms.			
Huhn n. 6 650 grms.			
Huhn n. 7 680 grms.			
Huhn n. 8 610 grms.			

Serie K

Ensaio do soro da cabra DS

(Antiespiroquetico não hemolitico)

Animais tratados 24 horas apóz a infeção

ANIMAL	QUANT. DE GERMENS (INJEÇÃO SUB-CUTANEA)	QUANT. DE SORO (INJEÇÃO SUB-CUTANEA)	REZULTADO
Frango n. 1 Testemunha 690 grms.	0,1 ccde sangue com espiroquetes.	10 cc soro normal de cabra.	Todos estes animaes adquiriram espiroquetoze.
Frango n. 2 680 grms.		5 cc soro especifico.	
Frango n. 3 635 grms.		8 cc soro especifico.	
Frango n. 4 525 grms.		9 cc soro especifico.	
Frango n. 5 600 grms.		10 cc soro especifico.	Nenbum destes animaes aprezentou manifestações de infeção espiroquetica.
Frango n. 6 640 grms.			
Frango n. 7 500 grms.			
Frango n. 8 670 grms.			
Frango n. 9 470 grms.			

Serie K

Versuche mit Serum von Ziege DS

(Nicht hämolytisches Serum gegen Spirochätose)

24 Studen nach der Infektion behandelte Tiere

TIER	DOSIS DES VIRUS (SUBKUTANE INJEKTION)	DOSIS DES SERUMS (SUBKUTANE INJEKTION)	REZULTAT
Huhn n. 1 Zeuge. 690 grms.	0,1 cc Blut mit Spirochäten.	10 cc normales Ziegenserum.	Alle diese Tiere erkrankten an Spirochätose.
Huhn n. 2 680 grms.		5 cc spezifisches Serum.	
Huhn n. 3. 635 grms.		8 cc spezifisches Serum.	
Huhn n. 4. 525 grms.		9 cc spezifisches Serum.	
Huhn n. 5. 600 grms.		10 cc spezifisches Serum.	Keines der Tiere zeigt Erscheinungen von Spirochätose.
Huhn n. 6. 640 grms.			
Huhn n. 7. 500 grms.			
Huhn n. 8. 670 grms.			
Huhn n. 9. 470 grms.			

Série L

Ensaio do soro da cabra DS

(Antiespiroquetico não hemolitico)

Animais tratados 24 horas apóz a infeção

ANIMAL	QUANT. DE GERMENS (INJEÇÃO SUB-CUTANEA)	QUANT. DE SORO (INJEÇÃO SUB-CUTANEA)	REZULTADO
Frango n. 1 Testemunha 750 grms.	0, cc de sangue com espiroquetes.	10 cc soro normal de cabra.	Todos estes animaes adquiriram espiroquetoze.
Frango n. 2 740 grms.		5 cc soro especifico.	
Frango n. 3 670 grms.		8 cc soro especifico.	
Frango n. 4 595 grms.		10 cc soro especifico.	Nenhum destes animaes apresentou manifestações da infeção espiroquetica.
Frango n. 5 660 grms.			
Frango n. 6 680 grms.			
Frango n. 7 700 grms.			
Frango n. 8 645 grms.			

Série L

Versuche mit Serum von Ziege DS

(Nicht hämolytisches Serum gegen Spirochätose)

24 Stunden nach der Infektion behandelte Tiere

TIER	DOSIS DES VIRUS (SUBKUTANE INJEKTION)	DOSIS DES SERUMS (SUBKUTANE INJEKTION)	RESULTAT
Huhn n. 1 Zeuge 750 grms.	0, cc Blut mit Spirochäten.	10 cc normales Ziegenserum.	Alle diese Tiere erkrankten an Spirochätose.
Huhn n. 2 740 grms.		5 cc spezifisches Serum.	
Huhn n. 3 670 grms.		8 cc spezifisches Serum.	
Huhn n. 4 595 grms.		10 cc spezifisches Serum.	Keines der Tiere zeigt Erscheinung von Spirochätose.
Huhn n. 5 660 grms.			
Huhn n. 6 680 grms.			
Huhn n. 7 700 grms.			
Huhn n. 8 645 grms.			

Serie M

Ensaio do soro das cabras BS e DS

(Injeção intravenoza)

Animais tratados 6 horas apóz a infeção

ANIMAL	QUANT. DE GERMENS (INJEÇÃO SUB-CUTANEA)	QUANT. DE SORO (INJEÇÃO SUB-CUTANEA)	REZULTADO
Frango n. 1 Testemunha 600 grms.	0,1 cc de sangue com espiroquetes.	3 cc soro normal de cabra.	Este animal adquiriu espirochaetose.
Frango n. 2 525 grms.		3 cc soro especifico cabra BS.	Morreu 2 horas apóz a injeção.
Frango n. 3 610 grms.			Morreu 40 minutos apóz a injecção.
Frango n. 4 620 grms.			Morreu 5 horas apóz a injeção.
Frango n. 5 500 grms.			Morreu 2 horas apóz a injeção.
Frango n. 6 570 grms.		3 cc soro especifico cabra BS.	Estes animais não se resentiram absolutamente da injeção intravenoza. Nenhum delles adquiriu espiroquetoze.
Frango n. 7 630 grms.			
Frango n. 8 640 grms.			
Frango n. 9 555 grms.			

Serie M

Versuche mit Serum von Ziegen BS und DS

(Intravenöse Injektion)

6 Stunden nach der Infektion behandelte Tiere

TIER	DOSIS DES VIRUS (SUBKUTANE INJECTION)	DOSIS DES SERUMS (SUBKUTANE INJEKTION)	RESULTAT
Huhn n. 1 Zeuge 600 grms.	0,1 cc Blut mi Spirochäten.	3 cc normales Ziegenserum	Erkrankte an Sipirachätose.
Huhn n. 2 525 grms.		3 cc spezifisches Serum Ziege BS.	† 2 Stunden nach der Injektion.
Huhn n. 3 610 grms.			† 40 Minuten nach der Injektion.
Huhn n. 4 620 grms.			† 5 Stunden nach der Injektion.
Huhn n. 5 500 grms.			† 2 Stunden nach der Injektion.
Huhn n. 6 570 grms.		3 cc zpezifisches Serum Ziege BS.	Die Tiere zeigten keine Reaktion nach der sub-kutanen Injektion und keine derselben erkrankte an Spirochätose.
Huhn n. 7 630 grms.			
Huhn n. 8 640 grms.			
Huhn n. 9 555 grms.			

Serie N **Ensaio do soro das cabras BS e DS**

(Injeção intravenoza)

Animais tratados 18 horas apóz a infeção

ANIMAL	QUANT. DE GERMENS (INJEÇÃO SUB-CUTANEA)	QUANT. DE SORO (INJEÇÃO SUB-CUTANEA)	REZULTADO
Frango n. 1 Testemunha 670 grms.	0,1 cc de sangue com espiroquetes.	5 cc soro normal de cabra.	Este animal adquiriu espiriloze.
Frango n. 2 630 grms.		5 cc soro especifico cabra DS.	Morreu 35 minutos apóz a injeção.
Frango n. 3 610 grms.			Morreu 20 minutos apóz a injeção.
Frango n. 4 690 grms.			Morreu 50 minutos apóz a injeção.
Frango n. 5 700 grms.			Morreu 15 minutos apóz a injeção.
Frango n. 6 560 grms.		5 cc soro especifico cabra DS.	Estes animaes não se resentiram absolutamente da injeção intravenoza. Nenhum d'elles adquiriu espiroquetoze.
Frango n. 7 645 grms.			
Frango n. 8 710 grms.			
Frango n. 9 670 grms.			

Serie N **Versuche mit Serum von Ziegen BS und DS**

(Intravenöse Injektion)

18 Stunden nach der Infektion behandelte Tiere

TIER	DOSIS DES VIRUS (SUBKUTANE INJEKTION)	DOSIS DES SERUMS (SUBKUTANE INJEKTION)	RESULTAT
Huhn n. 1 Zeuge 6. 670 grms.	0,1 cc Blut mit Spirochäten.	5 cc normales Ziegenserum.	Erkrankte an Spirochätose
Huhn n. 2 630 grms.		5 cc spezifisches Serum Ziege BS.	† 35 Minuten nach der Injektion.
Huhn n. 3 610 grms.			† 29 Minuten nach der Injektion.
Huhn n. 4 690 grms.			† 50 Minuten nach der Injektion.
Huhn n. 5 700 grms.			† 15 Minuten nach der Injektion.
Huhn n. 6 560 grms.		5 cc spezifisches Serum Ziege DS.	Die Tiere zeigten keine Reaktion nach der subkutanen Injektion und keines derselben erkrankte an Spirochätose.
Huhn n. 7 645 grms.			
Huhn n. 8 710 grms.			
Huhn n. 9 670 grms.			

Série O Verificações feitas com a vaccina contra a espiroquetose da gallinha

Dose minima imunizante

ANIMAL (PESO OSCILANDO ENTRE 600 e 800 GRMS.	QUANTIDADE DA VACCINA (VIA SUB-CUTANEA)	QUANTIDADE DE SANGUE INFETANTE INOCULADO 1 MEZ APÓS A VACCINAÇÃO. VIA SUB-CUTANEA.	REZULTADO
Frangos 1 a 4	0,01 cc	0,1 cc	Todos os frangos deste grupo se apresentaram infetados.
Frangos 5 a 8	0,05 cc		Sómente o frango n. 8 se infetou.
Frangos 9 a 12	0,1 cc		
Frangos 13 a 16	0,5 cc		Nenhum destes animaes se infetou.
Frangos 17 a 20	1 cc		
Frangos 21 a 24 (Testemunhas)	0 cc		Todos os frangos deste grupo adquiriram a espiroquetose.

Série O Versuche mit Vaccine gegen Huehner spirochaetose

Kleinste immunisierende Dose

TIER GEWICHT 600 800 GRMS.	DOSE DER VACCINE (SUBKUTANE INJEKTION)	1 MONAT NACH IMPFUNG INJIZIERTE DOSE VON VIRULENTEM BLUTE.	RESULTAT
Hühner 1 a 4	0,01 cc	0,1 cc	Sämtliche Hühner erkrankten an Spirochätose.
Hühner 5 a 8	0,05 cc		Nur n. 8 erkrankte.
Hühner 9 a 12	0,1 cc		
Hühner 13 a 16	0,5 cc		Keines dieser Tiere erkrankte.
Hühner 17 a 20	1 cc		
Hühner 21 a 24 Zeugen	0 cc		Sämmtliche Hühner erkrankten an Spirochätose.

Serie P **Verificações da imunidade conferida pela vacina ao cabo de 3 mezes**

ANIMAL PEZO ENTRE 600 E 800 GRMS.	QUANTIDADE DE VACINA (VIA SUB-CUTANEA)	QUANTIDADE DE SANGUE INFETANTE INOCULADO 3 MEZES APOZ A VACINAÇÃO. VIA SUB-CUTANEA	REZULTADO
Frango 1 Frango 2 Frango 3 Frango 4 Frango 5 Frango 5 Frango 6 Frango 7 Frango 8 Frango 9 Frango 10 Frango 11 Frango 12	1 cc	0,1 cc	Nenhum destes animais se aprezentou infetado.
Frango 13 Testemunha Frango 14 Testemunha	0 cc		Os frangos 13 e 14 adquiriram esprioquetose.

Serie P **Immunitätsversuche mit Vaccine nach 3 Monaten**

TIER GEWICHT 600-800 GRMS.	DOSIS DER VACCINE (SUBKUTANE EINSPRITZUNG)	3 MONATE NACH INPFUNG INJIZEIRTE DOSE VON VIRULENTEM BLUTE.	RESULTAT
Huhn 1 Huhn 2 Huhn 3 Huhn 4 Huhn 5 Huhn 6 Huhn 7 Huhn 8 Huhn 9 Huhn 10 Huhn 11 Huhn 12	1 cc	0,1 cc	Keines dieser Tiere erkrankte.
Huhn 13 Zeuge Huhn 14 Zeuge	0 cc		Die Hühner 13 und 14 erkrankten an Spirochätose.

Serie Q **Verificação da imunidade conferida pela vacina ao cabo de 6 mezes**

ANIMAL PESO ENTRE 600 E 800 GRMS.	QUANTIDADE DE VACINA (VIA SUB-CUTANEA)	QUANTIDADE DE SANGUE INFETANTE INOCULADO 6 MEZES APOZ A VACINAÇÃO VIA SUB-CUTANEA	REZULTADO
Frango 1 Frango 2 Frango 3 Frango 4 Frango 5 Frango 6 Frango 7 Frango 8 Frango 9 Frango 10 Frango 11 Frango 12 Frango 13	1 cc	0,1 cc	Nenhum destes animais se aprezentou infetado.
Frango 14 Testemunha Frango 15 Testemunha Frango 16 Testemunha	0 cc		Os frangos ns. 14, 15 e 16 adquiriram a espiroquetoze.

Serie Q **Immunitaetsversuche mit Vaccine nach 6 Monaten**

TIER EGWICHT 600-800 GRMS.	DOSIS DER VACCINE (SUBKUTANE EINSPRITZUNG)	6 MONATE NACH IMPFUNG INJIZIERTE DOSE VON VIRULENTEM BLUTE.	RESULTAT
Huhn 1 Huhn 2 Huhn 3 Huhn 4 Huhn 5 Huhn 6 Huhn 7 Huhn 8 Huhn 9 Huhn 10 Huhn 11 Huhn 12 Huhn 13	1 cc	0,1 cc	Keines dieser Tiere erkrankte.
Huhn 14 Zeuge Huhn 15 Zeuge Huhn 16 Zeuge	0 cc		Die Hühner ns. 14, 15 und 16 erkrankten an Spirochätose.

Serie R **Verificação da imunidade conferida pela vacina ao cabo de 10 mezes**

ANIMAL PEZO ENTRE 600 E 800 GRMS.	QUANTIDADE DE VACINA (VIA SUB-CUTANEA)	QUANTIDAE DE SANGUE INFETANTE INOCULADO 10 MEZES DEPOIS DA VACINAÇÃO. VIA SUB-CUTANEA	REZULTADO
Frango 1 Frango 2 Frango 3 Frango 4 Frango 5 Frango 6 Frango 7 Frango 8	1 cc	0,1 cc	Nenhum destes animais se aprezentou infetado.
Frango 9 Testemunha Frango 10 Testemunha Frango 11 Testemunha	0 cc		Todos estes animais adquiriram a espiroquetoze.

Serie R **Immunitaetsversuche mit Vaccine nach 10 Monaten**

TIER GEWICHT 600 —800 GRMS.	DOSE DER VACCINE (SUBKUTANE EINSPRITZUNG)	10 MONATE NACH IMPFUNG INJIZIERTE DOSE VON VIRULEM BLUTE.	RESULTAT
Huhn 1 Huhn 2 Huhn 3 Huhn 4 Huhn 5 Huhn 6 Huhn 7 Huhn 8	1 cc	0,1 cc	Keines dieser Tiere erkrankte.
Huhn 9 Zeuge Huhn 10 Zeuge Huhn 11 Zeuge	0 cc		Sämmtliche Tiere erkrankten an Spirochätose.

Serie S **Verificação da imunidade conferida pela vacina ao cabo de 13 mezes**

ANIMAL PEZO ENTRE 600 E 800 GRMS.	QUANTIDADE DE VACINA (VIA SUB-CUTANEA)	QUANTIDADE DE SANGUE INFETANTE INOCULADO 13 MEZES APOS A VACINAÇÃO VIA SUB-CUTANEA	REZULTADO
Frango 1 Frango 2 Frango 3 Frango 4 Frango 5 Frango 6 Frango 7 Frango 8 Frango 9 Frango 10 Frango 11 Frango 12 Frango 13 Frango 14	1 cc	0,1 cc	Nenhum destes animais se apresentou infetado.
Frango 15 Testemunha Frango 16 Testemunha Frango 17 Testemunha	0 cc		Todos estes animais adquiriram espiroquetoze

Serie S **Immunitaetsversuche mit Vaccine nach 13 Monaten**

TIER GEWICHT 600 —800 GRMS.	DOSIS DER VACCINE (SUB-KUTANE EINSPRITZUNG)	13 MONATE NACH IMPFUNG INJIZIERTE DOZE VON VIRULENTEM BLUTE	RESULTAT
Huhn 1 Huhn 2 Huhn 3 Huhn 4 Huhn 5 Huhn 6 Huhn 7 Huhn 8 Huhn 9 Huhn 10 Huhn 11 Huhn 12 Huhn 13 Huhn 14	1 cc	0,1 cc	Keines dieser Tiere erkrankte.
Huhn 15 Zeuge Huhn 16 Zeuge Huhn 17 Zeuge	0 cc		Sämmtlich Tiere erkranken an Spirochätose.

Serie T **Verificação da rezistencia dos animais vacinados a quantidades diversas de sangue infetante**

ANIMAL PEZO ENTRE 600 E 800 GRMS.	QUANTIDADE DE VACINA (VIA SUB-CUEANEA)	QUANTIDADE DE SANGUE INFETANTE INOCULADO 1 MEZ APOZ A VACINAÇÃO.	REZULTADO
Frango 1	1 cc	0,1 cc	Nenhum destes animais adquiriu a infeção.
Frango 2		0,1 cc	
Frango 3		1 cc	
Frango 4		1 cc	
Frango 5		5 cc	
Frango 6		5 cc	
Frango 7		10 ce	
Frango 8		10 cc	
Frango 9	0 cc	0,1 cc	Os frangos 9 e 10 adquiriram a espiroquetoze.
Testemunha			
Frango 10		0, cc	
Testemunha			

Serie T **Resistenzversuche der mit verschiedenen Dosen virulenten Blutes vaccinierten Tiere**

TIER GEWICHT 600-800 GRMS.	DOSE DER VACCINE (SUBKUTANE EINSPRITZUNG)	1 MONAT NACH DER VACCINATION INJIZIERTE DOSE VON VIRULENTÈM BLUTE.	RESULTAT
Huhn 1	1 cc	0,1 cc	Keines dieser Tiere erkrankte.
Huhn 2		0,1 cc	
Huhn 3		1 cc	
Huhn 4		1 cc	
Huhn 5		5 cc	
Huhn 6		5 cc	
Huhn 7		10 cc	
Huhn 8		0,1 cc	
Huhn 9	0 cc	0, cc	Die Hühner 9 und 10 erkrankten an Spirochätose.
Zeuge			
Huhn 10			
Zeuge			

Serie U **Verificação da conservação do poder imunisante da vacina feita 1 anno apóz o seu preparo**

ANIMAL PESO ENTRE 600 e 800 GRMS.	QUANT. DE VACCINA COM 1 ANNO DE IDADE (VIA SUB-CUTANEA)	QUANT. DE SANGUE INFETANTE INOCULADO 1 MEZ APÓZ.	REZULTADO
Frango n. 1 Frango n. 2 Frango n. 3 Frango n. 4 Frango n. 5 Frango n. 6 Frango n. 7	1 cc	0,1 cc	Nenhum destes animaes adquiriu a infecção.
Frango n. 8 Testemunha Frango n 9 Testemunha	0 cc		Os frangos 8 e 9 ndquiriram a sspiriquetoze.

Serie U **Versuche ueber die Konservierung des Immunizierungsvermoegens der Vaccine 1 Jahr nach ihrer Bereitung**

TIER GEWICHT 600 800 GRMS.	DOSE DER VACCINE 1 JAHR (SUBKUTANE EINSPRITZUNG.)	1 MONAT NACH DER VACCINATION INJIZIERTE DOSE VON VIRULENTEM BLUTE.	RESULTAT
Huhn n. 1 Huhn n. 2 Huhn n. 3 Huhn n. 4 Huhn n. 5 Huhn n. 6 Huhn n. 7	1 cc	0,1 cc	Keines dieser Tiere erkrankte.
Huhn n. 8 Zeuge Hunh n. 9 Zeuge	0 cc		Die Hühner 8 und 9 erkrankten an Spirochätose.

Serie V **Verificação da rezistencia dos frangos vaccinados a infeção pelos argas**

ANIMAL PEZO ENTRE 600 800 GRMS.	QUATIDADE DE VACINA. INJEÇÃO SUB-CUTANEA	PRAZO ENTRE A VACINAÇÃO E A PICADA DOS ARGAS INFETADOS	REZULTADO
Frango 1	1 cc	1 mez.	Nenhum destes frangos adquiriu a espiroquetoze.
Frango 2			
Frango 3			
Frango 4			
Frango 5		3 mezes.	
Frango 6			
Frango 7			
Frango 8			
Frango 9	0 cc	Picados pelos mesmos argas que os frangos 1 a 4.	Todos estes frangos adquiriram a espiroquetoze.
Testemunha			
Frango 10			
Testemunha			
Frango 11		Picados pelos mesmos argas que os frangos 5 a 8	
Testemunha			
Frango 12			
Testemunha			

Seri V **Feststellung des Wiederstandes der geimpften Huehner gegen die Infektion durch den Biss der Argaszecken**

TIER GEWICHT 600 —800 GRMS.	DOSE DER VACCINE SUBKUTANE EINSPRITZUNG	ZEITRAUM ZWISCHEN VACCINATION UND ANSETZEN DER ARGASZECKEN.	RESULTAT
Huhn 1	1 cc	1 Monat.	Keines dieser Tiere erkrankte.
Huhn 2			
Huhn 3			
Huhn 4			
Huhn 5		3 Monate.	
Huhn 6			
Huhn 7			
Huhn 8			
Hnhn 9 Zeuge	0 cc	Von denselben Argas gebissen wie Hühner 1 bis 4.	Alle diese Tiere erkrankten an Spirochätose.
Huhn 10 Zeuge			
Huhn 11 Zeuge		Von denselben Argas gebissen wie Hühner 5 bis 8.	
Huhn 12 Zeuge			

BIBLIOGRAFIA

ARAGÃO, H. B. ..... 1905 Ensaios de sorotherapia nas molestias produzidas por germens não cultivaveis.
Teze de doutouramento.

DUNGER, V. ..... 1900 Beitrag sur Immunitätslehre.

LEVADITI ..... 1904 Contribution à l'étude de la spirillose des poules.
Ann. de l'Institut Pasteur. Tome 18. N. 3.

MARCHOUX & SIMOND 1906 Études sur la fièvre jaune.
Ann. de l'Institut Pasteur. Tome 20, N. 1.

NEISSER & LUBOWSKI 1901 Lässt sich durch Einspritzung der agglutinierten Typhusbacillen eine Agglutininproduction hervorrufen?
Centralbl. für Bakteriologie. Bd. 30, No. 13.

PFEIFER, R. & FRIEDBERGER, E. ... 1902 Ueber das Wesen der Bakterienvirulenz nach Untersuchungen an Cholera-Vibrionen.
Berliner klinische Wochenschrift No. 50, 51.

REHNS, J. ..... 1901 L'immunité active et les Toxines diphtériques surcompensées.
Compt. Rend. Soc. Biol. p. 141.

SACHS, H. ..... 1901 Immunisirungsversuche mit Immunkörperbeladenen Erythrocyten.
Centralbl. für Bakteriologie. Bd. 30, N. 13.

THEILER, A. ..... 1905 Maladies des Troupeaux dans l'Afrique du Sud.
Bull. de l'Institut Pasteur. Tome III, No. 15.

Contribuições para a helmintolojia brazileira.

IV

Styphlodora condita n. sp.

PELO

Dr. Gomes de Faria.

(Com a estampa 1)

Beiträge zur Systematik der brasilianischen Helminthen.

IV

Styphlodora condita n. sp.

VON

Dr. Gomes de Faria.

(Mit Tafel 1)

Os distomeos, que parazitam as cobras, têm sido objeto de atenção dos colecionadores e zoolojistas desde RUDOLPHI (1819) até ao mais recente trabalho de LUEHE. Da America, a não ser as contribuições devidas a NATTERER e á atividade de LEIDY, pouco é conhecido a este respeito, o que faz pensar que o material é raro ou tem escapado aos investigadores. Já em uma das minhas pequenas contribuições anteriores descrevi um *Dicrocoelium infidum mihi* de *Eunectes murina L.* (1910). Nestas linhas vou rapidamente falar dum distomeo que devo á gentileza do Dr. RUY LADISLAO, que o colecionou em ITAPURA no E. de S. Paulo nos ureteres de uma cobra que vulgarmente é conhecida no Brazil sob o nome de «Caninana» e cujo nome zoolojico é *Spilotes pullatus L.*

Die schlangenbewohnenden Distomen haben seit RUDOLPHI (1819) bis zur neuesten Arbeit von LUEHE die Aufmerksamkeit von Sammlern und Zoologen beschäftigt. Ausser den Beiträgen, welche wir NATTERER und dem Fleisse LEIDY's verdanken, ist aus Amerika in dieser Hinsicht wenig bekannt geworden, woraus man schliessen kann, dass das einschlägige Material spärlich ist oder der Aufmerksamkeit der Forscher entging. Schon in einem meiner früheren kleinen Beiträge beschrieb ich ein *Dicrocoelium infidum* MIHI (1910) aus *Eunectes murina* L. Im Nachfolgenden werde ich kurz eine *Distomee* besprechen, welche ich der Güte von Dr. RUY LADISLAO verdanke, der diesselbe in ITAPURA, im Nord-Westen von São Paulo sammelte; er fand sie in den Ureteren einer Schlange, deren landläufige Bezeichnung *Caninana* ist, während der zoologische Name *Spilotes pullatus* L. lautet.

O material que serviu para esta descrição era constituido por 10 exemplares conservados em alcool, sendo o estado destes tão bom quanto este reativo permite. Os vermes são pequenos medindo em media 4mm. a 4,5mm. de comprimento e até 1 mm. de largura maxima. O corpo é lingulado com a extremidade anterior muito afilada. emquanto que a posterior se dilata, e se achata no sentido antero-posterior. No limite do terço medio com o posterior é que a dilatação é maxima e donde tomámos os dados numericos acima. A côr é branca, acinzentada, salvo na parte do corpo ocupada pelo utero onde ella é amarela ferrujinea. Ventoza bucal sub-terminal, menor que a ventoza ventral, medindo em media 0,36 mm., emquanto esta ultima tem 0,43 mm. São sempre colocadas uma vizinha da outra, separadas por uma distancia que não é mais de um oitavo do comprimento total do corpo.

A pele é provida de grande numero de espinhos fortes, principalmente na vizinhança do segmento cefalico; para traz, tornam-se mais raros e fracos até a ultima porção posterior, onde faltam completamente, mantendo-se porém a pele um pouco espessa e rugoza. O aparelho dijestivo compõe-se, além da ventoza bucal já falada, de um prefarinje muito curto a que se segue um farinje bem dezenvolvido, musculozo, de fórma quazi oval, continuando-se com um ezofago de comprimento medio. Numerozas celulas glandulares envolvem estes dois organs, principalmente o farinje. A bifurcação do tubo dijestivo dá-se para diante do poro genital, emitindo os dois cécos que se assestam para as bordas laterais, estendendo-se apenas até o limite dos trez quartos anteriores do corpo. Os cécos não contêm sangue, ao contrario do que acontece com varios distomeos, parazitos do pulmão e de outros organs, onde os vermes procuram alimento nos vazos dos hospedeiros.

Do aparelho excretor, nos nossos preparados, só foi observado o poro excretor que jaz na extremidade posterior, mediano,

Das Material, welches der Bezeichnung zu Grunde lag, bestand aus zehn Exemplaren, welche in Alkohol aufbewahrt und so gut konserviert waren, als man es bei Anwendung dieser Flüssigkeit erwarten kann. Die Würmer sind klein und messen in Mittel 4-4,5 mm. Länge, während die grösste Breite ca. 1 mm. beträgt. Der Körper ist zungenförmig und am Vorderende stark zugespitzt, während das Hinterende breiter und etwas abgestutzt erscheint. Die stärkste Verbreiterung, welche obiger Messung zu Grunde liegt, findet sich an der Grenze von mittlerem und letztem Drittel. Die Farbe ist grauweiss, ausser an den Teilen, welche den Uterus enthalten und rostgelb erscheinen. Der subterminale Mundsaugnapf hat im Mittel einen Durchmesser von 0,36 mm. und ist kleiner, als der Bauchsaugnapf, bei dem er 0,43 beträgt. Sie liegen einander immer sehr nahe und ihre Entfernung beträgt nicht mehr, als ein Achtel der gesammten Körperlänge.

Die Haut ist, besonders am Kopfsegment, mit zahlreichen starken Stacheln versehen; nach hinten zu werden sie shwächer und seltener, bis sie im Endteile fehlen, während sich die Haut etwas verdickt und runzelig erweist. Der Verdauungsapparat besteht aus dem schon erwähnten Mundsaugnapf und einem kurzen Präpharynx, auf dem ein wohl entwickelter, muskulöser und nahezu eiförmiger Pharynx folgt; letzterer setzt sich in einem mittellangen Oesophagus fort und beide, besonders aber der Pharynx, werden von enormen Drüsenzellen umgeben. Es folgt der Darm, der sich vor dem Genitalporus gabelt und zwei Coeca bildet, welche sich den Seitenrändern nähern und sich nur bis zu Ende der vorderen drei Viertel des Körpers erstrecken. Im Gegensatze zu den Beobachtungen an andern *Distomeen*, welche die Lungen oder andere Organe bewohnen und ihre Nahrung in den Gefässen des Wirtes suchen, enthalten die Coeca bei dieser Art kein Blut.

Vom Excretionsapparat kam in meinen Präparaten nur der *porus excretorius* zur Beobachtung; derselbe liegt am Hinter-

comunicando-se com a vezicula excretora, donde se vê partir pelo menos um canal, logo oculto pelo utero, além de que o estado de conservação não era muito proprio para mais finas observações.O poro genital é situado pouco antes da ventoza ventral, na linha mediana. Existe uma bolsa de cirro cilindrica, de tamanho variavel conforme o estado de retração ou eversão do *penis*, conforme Looss observou para a sua *Styphlodora serrata* Lss. Quando o cirro não está completamente expelido, a bolsa ultrapassa a ventoza ventral atraz. A bolsa tem paredes musculozas fortes e no fundo encerra uma vezicula seminal não tortuoza. *Pars prostatica* e *ductus ejaculatorius* são claramente observaveis, assim como o *penis* bastante longo ; quando totalmente expelido, pode ultrapassar o bordo lateral do corpo, como verificámos em um dos nossos preparados *in-toto*, vendo-se então a superficie toda guarnecida de espinhos muito curtos e finos. Os dois testiculos são vistos para dentro dos cécos e para traz do ovario, dispostos um atraz do outro, sendo a sua forma sempre muito irregular, ora esferica, ora oval, com incizões ou chanfranduras, muito irregulares porém não profundas, e ás vezes faltando completamente. O ovario pequeno, de forma quazi regular e esferica é colocado para diante dos testiculos e para traz e lateralmente á bolsa do cirro. Tem em media 0,30 mm. de diametro. Um pouco para traz e lateralmente encontra-se um *receptaculum seminis* bem dezenvolvido, ovoide. Canal de Laurer : não nos permitiu observal-o o estado de conservação do material. As glandulas vitelojenas são colocadas lateralmente, cobrindo os cécos, ultrapassando-os para fóra e estendendo-se do bordo posterior da ventoza ventral, até ao bordo anterior do primeiro testiculo. São compostas de grandes foliculos, porém notavelmente pequenos em extensão. O utero passa para traz do ovario entre os testiculos, ocupando as alças uterinas a porção do verme situada para traz destes, onde

ende median und kommunizirt mit der Exkretionsblase, von der man wenigstens einen Kanal abgehen sieht, der aber bald durch den Uterus verborgen wird ; auch sonst waren feinere Beobachtungen in Folge des Konservationszustandes erschwert. Der Genitalporus liegt in der Mittellinie, etwas vor den Bauchsaugnapf. Man bemerkt einen zylindrischen Cirrusbeutel, dessen Volumen der Retraktion oder Ausstülpung des Penis entsprechend wechselt, wie es Looss bei seiner *Styphlodora serrata* beobachtete. Wenn der Cirrus nicht vollständig ausgetülpt ist, so reicht der Cirrusbeutel nach hinten über den Bauchsaugnapf hinaus. Er hat muskulöse Wände und birgt in seinem Grunde eine nicht gewundene *Vesicula seminalis*. *Pars prostatica* und *ductus ejaculatorius* sind deutlich zu erkennen, ebenso der ziemlich lange Penis. Ist derselbe vollständig ausgestülpt, so kann er über den Seitenrand des Körpers hinausreichen, wie dies an einem *in toto* eingeschlossenen Exemplare erkennbar ist ; man sieht dann die ganze Oberfläche mit sehr kurzen und feinen Stacheln besetzt. Die beiden Hoden liegen innerhalb der Coeca und hinter den Ovarien und zwar einer hinter den andern ; ihre Form ist sehr unregelmässig, bald sind sie rund, bald oval ; bald zeigen sie wenig unregelmässige, seichte Einschnürungen, die manchmal gänzlich fehlen. Das kleine nahezu kugelige Ovarium liegt vor den Hoden und seitwärts vom Cirrusbeutel und hat einen mittleren Durchmesser von 0,3 mm. Etwas nach rückwärts und zur Seite findet sich ein gut entwickeltes eiförmiges *resceptaculum seminis*. Den Laurer'schen Kanal konnte ich in Folge der Art der Konservation nicht wahrnehmen. Die Dotterstöcke liegen seitwärts, die Coeca bedeckend und über dieselben herausragend, und erstrecken sich vom Vorderrande des ersten Testikels bis zum Hinterrande des Bauchsaugnapfes. Sie bestehen aus grossen Follikeln ; aber ihre Ausdehnung ist auffallend gering. Der Uterus verläuft hinter dem Ovarium zwischen den Hoden und seine Schlingen nehmen den hinter denselben gelegenen

enchem quazi completamente o corpo e ultrapassam para traz os limites dos cécos.

Os ovos são de forma oval, com 42 *micra* de diametro antero-posterior e 22 de diametro transverso. A casca é fina e transparente, lijeiramente amarelada e com pequeno espessamento na parte posterior, deixando perceber as celulas do ovo e as vitelojenas. O polo ocupado pelo operculo em forma de capuz é afilado.

Quanto a diagnostico diferencial, pouco ha a dizer. Em 1856 Leidy descreveu sob o nome de *Distomum horridum* um parazito por elle encontrado nos ureteres e rins dum *Python* e tambem de *Boa constrictor* L. cuja textura anatomica o faz colocar no genero *Plagiorchis*, o que basta suficientemente para afastal-o de qualquer confuzão com o distomeo que ora descrevemos. Especie, sem duvida, vizinha, é *D. variabile* Leidy (1856), da qual esse autor distinguiu duas variedades: *Var. a.* e *Var. b.*, ambas parazitos dos pulmões de *Tropidonotus sipedon*. *Var. b.* foi mais recentemente bem estudada por Luehe (1900) em material colecionado por Hassall em Maryland (U. S. A.), na cavidade bucal de *Tropidonotus sipedon* e que Stiles cedeu ao Muzeu de Berlin. Luehe mostrou as suas relações anatomicas proximas com a *Styphlodora solitaria* Looss, o tipo do genero em que colocamos nossa especie. A separação justifica-se por alguns dados anatomicos bem determinados, embora as dimensões sejam muito aproximadas. Na *Styphlodora variabilis* Leidy os cécos atinjem apenas o meio do corpo, as glandulas vitelojenas estendem-se desde a ventoza ventral até as extremidades dos dois cécos, o *receptaculum seminis* falta completamente; a vezicula seminal serpenteia e os espinhos da pele faltam para traz da ventoza ventral, o que exclue a confuzão com o nosso distomeo, logo que se comparem as descrições. O *penis* na especie de que tratamos tambem é provido de finos espinhos e os

Teil des Wurmes ein, woselbst sie den Körper vollständig ausfüllen und nach rückwärts über die Coeca hinausreichen.

Die Ova sind eiförmig, bei einem Längsdurchmesser von 43 und einem Querdurchmesser von 22 *Mikra*. Die feine, durchsichtige Schale ist leicht gelblich und am Hinterende etwas verdickt und lässt die Ei- und Dotterzellen erkennen. Der Pol, an welchem sich der kapuzenförmige Deckel befindet, ist zugespitzt.

Ueber die Unterscheidung von anderen Arten, braucht nicht viel gesagt zu werden. 1856 beschrieb Leidy unter dem Namen *Distomum horridum* einen Wurm, welchen er bei *Python* und bei *Boa constrictor* L. in den Harnleitern und Nieren aufgefunden hatte. Nach seiner anatomischen Struktur stellt er ihn in das Genus *Plagiorchis*, was allein genügt, um jede Verwechslung mit der hier beschriebenen *Distomee* auszuschliessen. Eine zweifellos nahestehende Art. ist *D. variabile* Leidy (1856), von dem der Autor zwei Varietäten unterscheidet, *a* und *b*, welche beide in den Lungen von *Tropidonotus sipedon* schmarotzen. Var. *b.* wurde neuerdings von Luehe genau studiert; das betreffende Material stammte aus Maryland (Nord-Amerika) und war von Hassall in der Mundhöhle von *Tropidnotus sipedon* gesammelt und von Stiles dem Berliner Museum überlassen worden. Luehe zeigte seine nahen anatomischen Beziehungen zu *Styphlodora serrata* Looss, dem Typus des Genus, zu dem ich meine Species rechne. Die Verschiedenheit ergibt sich, trotz sehr ähnlicher Dimensionen, aus deutlichen anatomischen Unterschieden. Bei *Styphlodora variabilis* Leidy erreichen die Coeca kaum die Mitte der Körperlänge, die Dotterstöcke erstrecken sich vom Bauschsaugnapfe bis ans Ende der Coeca, das *receptaculum seminis* fehlt vollständig, die Samenblase ist gewunden und die Hautstacheln fehlen hinter dem Bauchsaugnapfe, so dass bei Vergleichung der Beschreibungen eine Verwechslung mit meiner *Distomee* ausgeschlossen ist. Auch der Penis ist bei meiner Art mit feinen Stacheln versehen und die Eier sind

ovos são maiores. Da *variedade b.* pouco é dado a considerar, vista a rezumida descrição de Leidy. Luehe (1900) pensa que se trata de especies completamente diferentes. As dimensões muito exajeradas nesta especie e o fato de possuir uma ventoza ventral proeminente a distinguem perfeitamente da nossa.

Muito para dezejar seria o reexame dessa especie de Leidy, sobretudo do material orijinal, o que talvez ainda seja possivel, como já se tem feito nas coleções mais antigas. Agora que tratei de especies semelhantes que ocorrem na America e em ofidios, discutirei sumariamente as duas especies descritas por Looss (1899) e que o levaram a crear este genero, deixando de lado as outras especies, que parazitam cobras e que por sua constituição diversa entram em outros generos, que não vem ao cazo discutir aqui.

O reprezentante tipo do genero *Styphlodora* é *St. serrata* Looss um parazito do intestino de *Varanus niloticus*. Indubitavelmente na sua organização geral o parazito que acabamos de descrever muito se assemelha a esta especie; porém evidentes dados para a sua diferenciação são as dimensões totais e as dos organs. Tambem tem pouca probabilidade a ocurrencia do mesmo parazito em dois animais tão diversos e de patrias lonjinquas, ainda mais si se leva em conta a sede totalmente diversa. A outra especie é *St. solitaria* Lss. (1899), parazito do intestino de *Thalassochelis corticata*. Esta anatomicamente se afasta bastante da nossa especie e tambem da especie tipo do genero, não sendo oportuna uma discussão diferencial.

Manguinhos, Novembro de 1910.

grösser. Ueber die Varität *b.* ist mit Rücksicht auf die kurze Beschreibung Leidy's wenig zu bemerken. Luehe (1900) ist der Ansicht, dass es sich um ganz verschiedene Arten handle. Die auffallend grossen Dimensionen dieser Art und die Angabe, dass der Bauchsaugnapf stark vorsteht, unterscheiden sie gänzlich von der meinigen.

Es wäre sehr wünschenswert, dass diese Art wieder untersucht, womöglich am Originalmaterial, würde und zwar wie es schon bei den ältesten Sammlugen geschehen ist.

Nachdem ich nun ähnliche, in Amerika und dei Ophidien vorkommende Arten besprochen habe, will ich noch kurz auf die zwei 1899 von Looss beschriebenen Arten eingehen, die ihn zur Aufstellung dieser Gattung veranlassten; dagegen übergehe ich, als nicht hierher gehörig, die anderen Arten, welche Schlangen bewohnen, aber in Folge ihrer anatomischen Verschiedenheiten anderen Gattungen eingereiht werden müssen.

Der typische Vertreter des Genus *Styphlodora* ist *St. serrata* Looss aus dem Darme von *Varanus niloticus*. Der soeben beschriebene Parasit steht dieser Art unzweifelhaft nahe, doch genügen die Grössenverhältnisse des ganzen Körpers, sowie der einzelnen Organe, zur Unterscheidung. Ausserdem ist das Vorkommen eines und desselben Parasiten in zwei, so verschiedenen und aus weit entfernten Gegenden stammenden, Tieren ganz unwahrscheinlich, besonders, wenn man noch die grosse Verschiedenheit der bewohnten Organe in Rechnung zieht. Die andere Art ist *St. solitaria* Looss aus dem Darme von *Thalassochelis corticata* (1899). Diese Spezies ist anatomisch von unserer Art und von dem Typus der Gattung so weit verschieden, dass ein Eingehen auf die Unterschiede überflüssig erscheint.

Manguinhos, November, 1910.

Castro Silva. del.

BIBLIOGRAFIA.

Braun, M.	1893	Bronn's Klassen und Ordnungen des Tierreichs. Bd. IV. Vermes, Trematoden.
Cobbold, T. S.	1851	Synopsis of the Distomidae. Proc. of the Linnean Soc. of London, Vol. V.
Diesing, K. M.	1851	Systema Helminthum. Vindobonae 1851.
Dujardin, F.	1851	Histoire naturelle des Helminthes. Paris 1851.
Faria, Gomes de	1910	Dicrocoelium infidum n. sp. Parazito da vezicula biliar da *Eunectes murina L.* Memorias do Instituto Oswaldo Cruz, Tomo II, pg. 22.
Leidy, Joseph	1856	A synopsis of Entozoa etc., cit. apud « Researches in Helminthlogy » by Joseph Leidy. Arranged and edited by Joseph Leidy jun. Smithsonian Miscel. Collect. No. 1.477. Wash. 1904.
Looss, A.	1894	Die Distomen unserer Fische und Frösche. Bibliotheca zool. Hft. 16.
Looss, A.	1896	Recherches sur la fauna parasitaire de l'Egypte. Mémoires de l'Institut Egyptien, I partie. Le Caire 1896.
Looss, A.	1899	Weitere Beiträge zur Helminthologie Aegyptens. Zoolog. Jahrbücher. Bd. XII.
Looss, A.	1902	Trematoden aus Seeschildkröten. Zoolog. Jahrbücher. Syst. Bd. 16.
Luehe, M.	1899	Zur Kenntnis einiger Distomen. Zoolog. Anzeiger. XXII. 1899. Leipzig.
Luehe, M.	1900	Ueber einige Distomen aus Schlangen und Eidechsen. Centralbl. f. Bakt. Abt. 1. Bd. XXVIII.
Molin, R.	1859	Nuovi Myzelminthi raccolti ed esaminati. Sitz. Ber. Akad. Wiss. Math. naturw. Kl. Bd. 37.
Monticelli, Fr. Sav. di	1893	Studii sui trematodi endoparasiti. Zoolog. Jahrbücher. Suppl. III. Jena.
Poirier, J.	1886	Trematodes nouveaux ou peu connus. Bull. d. l. Soc. Philomatique de Paris. Série 7. Tom. X, No. 1.
Rudolphi, C. A.	1819	Entozoorum Synopsis. Berolini 1810.
Stiles, Ch. Wardell & Hassall, Albert .	1908	Index-catalogue of medical and veterinary zoology. Trematodes and Trematodes-diseases.
Stossich, M.	1895	I distomi dei Rettili. Lavoro monografico. Boll. d. Soc. Adriatica d. Scienze nat. in Trieste. Vol. XVI.

O virus do mixoma dos coelhos

PELO

Dr. Arthur Moses.

Untersuchungen ueber das Virus myxomatosum der Kaninchen

VON

Dr. Arthur Moses.

Novas pesquizas sobre etiolojia da infeção, denominada mixoma dos coelhos, autorizam-nos a voltar ao assunto, anteriormente estudado por SANARELLI (1890) no 9.º Congresso Internacional de Hijiene e Demografia.

De um coelho, acidentalmente introduzido no Instituto, obtivemos virus para o inicio do estudo.

Quer na infeção espontanea, quer na experimental, nem sempre é identica a marcha da molestia. Ora é a blefaroconjuntivite o primeiro sintoma a se manifestar, ora a inflamação intensa e intucimento da baze da orelha.

Interessantes são os cazos em que a inoculação do sangue vem provar a prezença de virus em animais que morrem oito a nove dias apoz a inoculação, sem vestijio algum de lezão externa.

No correr de um ano de trabalho em que multiplas foram as inoculações prati-

Neue Untersuchungen über die Infektion, welche als Myxom der Kaninchen bezeichnet wird, berechtigen mich, auf diesen Gegenstand zurückzukommen, der früher von SANARELLI am 9ten Congress für Hygiene und Demographie studiert wurde.

Das Ausgangsvirus für diese Arbeit erhielt ich von einem Kaninchen, welches zufälligerweise sich unter den vom Institut erworbenen Tieren vorfand.

Der Verlauf der Krankheit schwankt ebenso bei der natürlichen, wie bei der experimentellen Infektion. Bald tritt die Blepharokonjunctivitis als erstes Symptom auf, bald eine intensive Entzündung und Anschwellung der Basis des Ohres.

Von Interesse sind die Fälle, in welchen die Verimpfung das Vorkommen des Virus im Blute von solchen Tieren beweist, welche acht bis neun Tage nach der Infektion, ohne Spur einer äusseren Läsion, erliegen.

Im Verlaufe einer einjährigen Arbeitszeit, während welcher ich vielfache Ueber-

cadas, pudemos com certa regularidade observar que cinco dias apoz a introdução do material infetante aparecem as primeiras manifestações objetivas da molestia

Morrem os animais no nono dia com forte conjuntivite, acompanhada de secreção purulenta que mantem aderentes as palpebras intumecidas pela blefarite e intensa inflamação das orelhas que se acham exajeradamente aumentadas pela proliferação anormal de tecido mixomatozo.

Em identico estado estão os organs genitais. Pelo corpo existem disseminados pequenos tumores subcutaneos. Alem destas manifestações ha a notar a adenite generalizada. Não exije o completo cortejo sintomatico o diagnostico da infeção. Indubitavelmente é a inflamação auricular a mais comum das manifestações morbidas.

Do coração retiravamos com asepsia, em aparelho de STRAUSS lijeiramente modificado em Manguinhos e descrito em trabalho de 1909, o sangue em periodo agonico, ocazião de maior riqueza do virus. Este passa para o soro por ocazião da retração do coagulo.

Não só nos organs irrigados pelo sangue (pele, musculo, coração, pulmão, figado, baço, rim, cerebro e ganglios linfaticos) se encontra o virus mas ainda no cristalino desprovido de circulação.

Em gral esterilizado eram triturados os organs e em solução fiziolojica preparada forte emulsão, depois filtrada em papel espesso.

Exijia igualmente previa passajem em papel a filtração do sangue desfibrinado. Para o soro era dispensavel esta tecnica. Em velas BERKEFELD (11, 12, 13, 14, 15), CHAMBERLAND (F e B) GARROS e PUKALL inquirimos da retenção de virus.

tragungen vornahm, konnte ich ziemlich regelmässig beobachten, dass die ersten objektiven Manifestationen der Krankheit fünf Tage nach Einführung des infektiösen Materiales auftraten.

Die Tiere sterben am neunten Tage mit starker Konjunctivitis; dieselbe wird von eitriger Sekretion begleitet, welche die in Folge von Blepharitis geschwollenen Augenlider verklebt und ausserdem von heftiger Entzündung der Ohren, welche durch die anomale Wucherung des myxomatösen Gewebes ausserordentlich an Volum zunehmen.

In gleichem Zustande befinden sich die äusseren Geschlechtsorgane. Ueber den Körper zerstreut, finden sich unter der Haut kleine subkutane Tumoren. Ausser diesen Manifestationen ist noch eine generalisierte Adenitis zu konstatieren. Für die Diagnose der Infektion ist nicht der ganze Symptomenkomplex nötig und die Entzündung der Ohren ist unzweifelhaft die häufigste der Krankheitsäusserungen.

Mitelst eines in Manguinhos etwas abgeänderten und in einer Arbeit von 1909 beschriebenen STRAUSS'schen Apparates, entnahm ich aseptisch, direkt aus dem Herzen, das Blut und zwar im präagonischen Stadium, wenn das Virus in grösster Menge vorhanden ist. Dasselbe geht bei der Schrumpfung des Koagulums ins Serum über.

Das Virus findet sich nicht nur in den vom Blute durchströmten Organen (Haut, Muskel, Herz, Lunge, Leber, Milz, Nieren, Gehirn und Lymphdrüsen), sondern auch in der gefässlosen Krystallinse.

Mit den Organen wurde, nach Zerreibung in sterilisierter Reibschale, mit physiologischer Lösung eine starke Emulsion hergestellt und diese durch dickes Papier filtriert. Auch das defibrinierte Blut musste, behufs Filtration, zuerst durch dickes Papier passieren, ebenso war diese Technik für das Serum unerlässlich. Ich untersuchte die Zurückhaltung des Virus durch Filterkerzen von BERKEFELD (11—14). CHAMBERLAND (F & B), GARROS und PUKALL.

Adicionando ao material em estudo o bacilo *fluorescens liquefaciens* verificavamos a perfeição do filtro.

Nos filtrados em vela BERKEFELD contrastava com a auzencia de bacterios a constante prezença de virus mixomatozo. Outro tanto não diremos dos filtrados nas demais velas ensaiadas em que era sempre retido o virus.

Filtrámos ainda o material atravez de camadas coloidais (agar a 3 %). A tecnica observada foi a descrita por PROWAZEK e ARAGÃO no estudo sobre a variola publicado no Tomo I desta revista.

Nos preparados córados pelo LOEFFLER pudemos verificar raros corpusculos redondos, de diferentes dimensões, córados de vermelho escuro, em tão pequeno numero que não nos julgamos autorizado a comparal-os com os encontrados na variola. De interesse é assinalar a auzencia de poder infetante destes corpusculos e do ultra filtrado recolhido em tubo esteril

Digamos, de passajem, que os animais de experiencia permaneciam oito a dez dias em observação para evitar a inoculação de algum já infetado e que, á retirada do coelho mixomatozo, se seguia rigoroza dezinfeção da gaiola.

Influencia alguma observámos da via de inoculação subcutanea, intramuscular, intraperitoneal ou intravenoza sobre a evolução da molestia ou intensidade das lezões.

E' suficiente a simples passajem de virus no dorso epilado ou sobre a conjuntiva não escarificada para transmitir a infeção com todo cortejo de manifestações.

Analogo ao que se verifica na vacina obesrvamos o curiozo fato da inoculação

Die Vollkommenheit des Filters wurde kontrolliert, indem ich den *bacillus fluorescens liquefaciens* zusetzte.

Bei den Filtraten der BERKEFELDfilter kontrastierte mit dem Fehlen der Bakterien das konstante Vorkommen des myxomatösen Virus. Dagegen kann ich von den anderen geprüften Kerzen nicht dasselbe sagen; vielmehr wurde das Virus stets zurückgehalten.

Ich filtrierte das Material auch durch kolloide Schichten (3% Agar). Die dabei befolgte Technik ist die von PROWAZEK und ARAGÃO bei ihren im ersten Bande dieser Zeitschrift veröffentlichen Studien über Variola beschrieben.

In den nach der LOEFFLFER'schen Geisselfärbungsmethode behandelten Präparaten konnte ich das Vorkommen sehr vereinzelter runder Körperchen konstatieren, die sich dunkelrot gefärbt hatten; ihre Zahl war eine so kleine, dass ich mich nicht berechtigt fühle, sie mit den bei Variola beobachteten zu vergleichen. Das Fehlen der infektiösen Wirkung dieser Körperchen, sowie des steril aufgefangenen Ultrafiltrates verdient besonders betont zu werden.

Nebenbei sei hier bemerkt, dass die Versuchstiere acht bis zehn Tage in Beobachtung blieben, um die Impfung eines bereits infizierten Tieres zu vermeiden und dass nach Entfernung der myxomatösen Kaninchen eine genaue Desinfektion der Käfige stattfand.

Die Art der Infektion durch subkutane, intramuskuläre, intraperitoneale oder intravenöse Einspritzung hat nach unseren Beobachtungen keinen Einfluss auf den Krankheitsverlauf oder die Intensität der Läsionen.

Es genügt die einfache Berührung des Virus mit dem enthaarten Rücken oder der nicht skarifizierten Konjunctiva um mit voller Sicherheit die Infektion mit ihrem ganzen Symptomenkomplex zu übertragen.

In Uebereinstimmung mit den bei Vaccine konstatierten Tatsachen beobachtete ich das merkwürdige Faktum, dass die intravenöse Einverleibung des Virus bei

intravenoza de virus provocar em coelho epilado intensas manifestações cutaneas.

Repetidas experiencias de introdução *per os* de soro ou extrato de um dos tumores em capsula de gelatina não nos puderam convencer das concluzões de SANARELLI, quanto á facilidade de transmissão da molestia por via dijestiva.

Raras vezes se infetam os animais alimentados de capim molhado por material infetante, parecendo que mesmo neste cazo a infeção se dá por via cutanea, habitual porta de entrada do virus cuja principal eliminação se faz pela secreção purulenta dos olhos.

Contato de algumas horas de animal verificadamente hijido com outro doente em gaiola previamente dezinfetada é suficiente para transmissão da infeção.

Quanto á doze infetante minima varia conforme o material inoculado: 0,025 de soro, 0,1 de globulos lavados, e 0,5 cc. de soro filtrado.

Impossivel de cultivar nos meios habituais ou nos especialmente preparados, podemos apenas informar da natureza do virus a passajem em vela BERKEFELD. Igualmente negativas foram as pesquizas ao ultramicroscopio e microscopio de preparados de sangue e esfregaços de organs em exame a fresco ou corados pelos liquidos habituais ou ainda estudados pelo metodo denominado de BURRI.

Não nos foi possivel confirmar as verificações de SPLENDORE (1908) publicadas em nota previa da « Revista da Sociedade Cientifica de S. Paulo ». Em esfregaços córados pelo liquido de GIEMSA assinala este pesquizador em celulas mixomatozas e leucócitos a prezença de incluzões que muito se assemelham ás do tracoma.

dem enthaarten Kaninchen intensive Hautmanifestationen veranlasste.

Wiederholte Versuche über die Einführung per os von Serum oder Extrakt von Tumoren in Gelatinkapseln überzeugten mich nicht von der Richtigkeit der von SANARELLI gemachten Schlüsse über die leichte Uebertragung der Krankheit durch den Verdauungstrakt.

Benetzt man Gras mit infektiösem Materiale, so infizieren sich die damit ernährten Tiere nur selten und es scheint, dass selbst in diesem Falle die Infektion auf dem Wege der Haut erfolgt, welche die gewöhnliche Eintrittspforte für das Virus darstellt, dessen Elimination hauptsächlich durch das eitrige Augensekret stattfindet.

Wenige Stunden der Berührung eines als gesund festgestellten Tieres mit einem kranken in einem zuvor desinfizierten Käfige genügen zur Uebertragung der Infektion.

Die minimale infektiöse Dosis schwankt je nach dem übertragenen Materiale und beträgt für Serum 0,025, für gewaschene Blutkörperchen 0,1 und für filtriertes Serum 0,5 Kubikcm.

Da sich das Virus in den gewöhnlichen und den speziell von mir hergestellten Nährböden nicht kultivieren lässt, so kann ich über seine Natur nur angeben, dass es das BERKEFELDfilter passiert. Auch Untersuchungen mit dem gewöhnlichen und dem Ultramikroskope an Blutpräparaten und Organausstrichen, die frisch und mit den gewöhnlichen Farbstoffen gefärbt und auch mit Anwendung der BURRI'schen Methode studiert wurden, ergaben kein Resultat.

Es war mir nicht möglich, die Befunde zu bestätigen, welche SPLENDORE (1908) in einer vorläufigen Mitteilung in der « *Revista da Sociedade Scientifica de S. Paulo* » veröffentlichte. Dieser Forscher teilt mit, dass in nach Giemsa gefärbten Ausstrichen in myxomatösen Zellen und Ausstrichen Einschlüsse vorkommen, welche sehr denjenigen bei Trachom gleichen.

Wenden wir uns nun zu den biologischen Eigenschaften des Virus, wobei ich

Estudemos agora as propriedades biolojicas do virus, começando pela influencia que sobre elle exercem os ajentes fizicos.

O soro, que em temperatura ambiente facilmente se enfraquece até tornar-se avirulento, conserva por longo prazo igual intensidade de poder infetante quando guardado em baixa temperatura no *Frigo* de MORGENROTH.

Aquecido a 50° durante sessenta minutos ou a 60° durante trinta minutos destroe-se o virus, rezistindo entretanto á temperatura de 56° durante meia hora.

Facilmente alteravel pelo calor é muito rezistente ao frio e dessecamento. A ação de cloreto de calcio apenas contribue para enfraquecer a virulencia.

Da ação da luz direta ou difuza pouco podemos, por emquanto, adiantar.

Para estudo de ação dos ajentes quimicos adotamos a seguinte tecnica: A 1 cc. de soro de animal doente adicionámos igual volume de diferentes diluições dos dezinfetantes em solução fiziolojica. Durante espaços variaveis de tempo mantivemos na geleira misturas assim preparadas inoculando as então por via subcutanea, habitualmente na orelha.

Acido fenico: Ação de quatro dias de soluções a 0,5, 1, 2 e 3 % conseguem roubar ao soro toda virulencia.

Sublimado: Efeito identico obtivemos com soluções a 2, 3, 5 e 10 ‰, atuando durante quatro dias. Outro tanto não diremos da solução a 0,5 e 1 ‰ que não o alterava.

Cloroformio: Enerjica é a ação deste anestezico, que em 24 horas anula completamente a ação do virus.

Formol: não tornam avirulento o soro 0,5 e 1 cc. de formol, mesmo apoz ação de 15 dias.

mit dem Einflusse beginne, den physikalische Agentien auf dasselbe ausüben.

Das Serum, welches bei Zimmertemperatur leicht abgeschwächt und sogar ganz unwirksam wird, behält lange Zeit hindurch dieselbe Infektionskraft, wenn es im « Frigo » von MORGENROTH bei niedriger Temperatur aufbewahrt wird.

Erwärmung auf 50 Grad während einer ganzen oder auf 60 während einer halben Stunde zerstört das Virus, während es einer Temperatur von 56° während einer halben Stunde widersteht.

Durch Hitze leicht zerstörbar, ist es jedoch gegen Kälte und Austrocknung äusserst widerstandsfähig. Die austrocknende Wirkung des Chlorkalziums trägt kaum dazu bei, seine Virulenz herabzusetzen.

Ueber die Wirkung der direkten und diffusen Belichtung kann ich zur Zeit nichts aussagen.

Für das Studium der chemischen Agentien wurde die nachfolgende Technik gewählt: Es wurden je einem Kubikzentimeter von einem kranken Tiere entnommenen Serums ein gleiches Volum verschiedener Verdünnungen der Desinfizientien mit physiologischer Kochsalzlösung zugefügt und die so erhaltenen Mischungen während wechselnder Zeiträume im Eisschrank aufbewahrt. Hierauf wurden dieselben subkutan, gewöhnlich am Ohre injiziert.

Karbolsäure: Eine viertägige Einwirkung von Lösungen zu 0,5, 1, 2 und 3% nahm dem Serum seine ganze Virulenz.

Sublimat: Dasselbe Resultat erhielten wir durch eine viertägige Einwirkung von Lösungen zu 2, 3, 5 und 10 ‰. Im Gegensatz hierzu wurde das Virus von Lösungen zu 0,5 und 1 ‰ nicht verändert.

Chloroform: Die Wirkung dieses Anästheticums ist eine sehr energische, da es innerhalb von 24 Stunden das Virus vollkommen inaktiv macht.

Formol: 0,5 und 1 Kubikzentimeter puren Formols nahmen, selbst nach

Iodeto de potassio: Apoz ação de seis dias de uma solução a 1:5. o animal inoculado morreu sem lezão suspeita de mixoma. Posterior exame veiu provar que era virulento o sangue de coelho.

Glicerina: 2 cc. adicionados ao soro durante 6, 12 e 24 dias não enfraquecem o virus.

Agua oxijenada: Igualmente diremos de 1 e 2 cc. de agua oxijenada ajindo durante seis dias.

Oleato de sodio: 0,001 gr., 0,05 gr. e 0,1 gr. anulam em dois dias o poder do virus.

Saponina: Para conseguir rezultado identico é necessario 1 gr. atuando por igual espaço de tempo. Diminuição da quantidade de saponina ou do tempo de ação permitem que os coelhos se infetem. Para neutralizar a enerjica ação toxica deste ajente quimico adicionamos soro ora humano, ora de cavalo.

Lecitina: 0,1 e 0,5 gr. tambem destroem o poder infetante do soro. Não é entretanto constante esta ação.

Bile: Irregulares são os efeitos da bile de cobaia e coelho, porem nitidos os rezultados com a de boi, de que 0,5 cc. eram suficientes para em quatro dias neutralizar o poder infetante do soro.

Imunidade natural: Mixoma é molestia que excluzivamente acomete aos coelhos, sendo sempre mortal a infeção. São refratarios os pequenos animais de laboratorio e animais domesticos comuns. Ratos e camondongos brancos e cinzentos, pombas, galinhas e cabras inoculadas por via subcutanea ou intravenoza com grandes dozes de material muito virulento nunca se inficionavam.

Em numerozas inoculações praticadas nenhuma observação de imunidade natural fizemos em coelho domestico. Mais rezis-

14tägiger Einwirkung, dem Serum seine Virulenz nicht.

Jodkalium: Nach sechstägiger Einwirkung einer Lösung von 1:5 starb das geimpfte Tier ohne myxomverdächtige Symptome. Die Ueberimpfung auf ein zweites Kaninchen zeigte aber, dass das Blut virulent war.

Glyzerin: Ein Zusatz von 2 Kzm. zum Serum schwächte das Virus während 6, 12 und 24 Tagen nicht ab.

Wasserstoffsuperoxyd: Dasselbe fand ich bei einer sechstägigen Einwirkung von 1 und 2 Kzm. H^2o^2.

Natriumoleat: 0,001, 0,05 und 0,1 zerstören die Virulenz innerhalb zweier Tage.

Saponin: Zur Erzielung derselben Wirkung während derselben Zeit brauchte ich 1,0. Eine Verminderung der Dosis oder der Einwirkungszeit hatte die Infektion der Kaninchen zur Folge. Um die stark toxische Wirkung dieser Substanz zu neutralisieren setzte ich menschliches oder Pferdeserum zu.

Lecithin: 0,1 und 0,5 zerstören ebenfalls die infektiöse Wirkung des Serums, doch ist das Resultat nicht konstant.

Galle: Die Wirkungen von Meerschweinchen- und Kaninchengalle sind ungleichmässig; dagegen waren die Resultate mit Ochsengalle unzweideutig, indem 0,5 Kub.zent. genügten, um innerhalb von vier Tagen die Infektiosität des Serums zu neutralisieren.

Natürliche Immunität: Die Krankheit befällt ausschliesslich Kaninchen und die Infektion ist immer tödtlich. Die übrigen kleinen Laboratoriumstiere und gewöhnlichen Haustiere sind immun. Weisse und graue Ratten und Mäuse, Tauben, Hühner und Ziegen, welche subkutan oder intravenös mit grossen Mengen hochvirulenten Materiales geimpft wurden, erkrankten niemals.

Bei zahlreichen Impfungen auf zahme Kaninchen konnte ich niemals eine natürliche Immunität konstatieren; dagegen waren die hiesigen wilden Kaninchen

tente é o coelho do mato (*lepus brasiliensis*) que só excepcionalmente se infeta.

Imunidade ativa: Analogo ao que se tem verificado em outras infeções procurámos, por processos fizicos e quimicos, preparar do material virulento vacina apropriada.

O aquecimento do virus ou não é suficiente para prevenir a infeção ou quando o é, é inutil como fator de imunização. Coelhos posteriormente inoculados com material não aquecido infetavam-se no mesmo tempo que os demais.

Sangue, soro ou extrato de orgão, secos pelo cloreto de calcio ou influenciados por ajente quimico que destrúa ou enfraqueça o virus não permitem, conforme se depreende de multiplas tentativas, a vacinação dos animais.

Nem melhores foram os rezultados colhidos com a precipitação do soro pelo sulfato de amonio e consequente dialize.

Retarda a infeção, sem entretanto a impedir, previa inoculação de soro tornado avirulento pela permanencia demorada á temperatura do laboratorio.

Imunidade passiva: Sangria de coelhos dez dias apoz a ultima inoculação de quantidades crecentes de soro ou extrato de orgam de virulencia reduzida ou anulada nao forneceu imunisoro com poder preventivo ou curativo.

Dada a excessiva sensibilidade dos animais a minimas quantidades de virus, não uzamos da tecnica de inoculação de pequenas dozes. Abandonado o coelho como animal de imunização, passamos a injetar em veia de cabra, a partir de 2 cc., altas dozes de soro de animal doente. Medeiavam quatro dias entre as inoculações e dez dias apoz a ultima fizemos com asepsia a sangria para estudo das propriedades imunizantes do soro.

(*Lepus brasiliensis*) widerstandsfähiger und infizierten sich nur ausnahmsweise.

Aktive Immunität: Entsprechend den bei anderen Infektionen gemachten Beobachtungen, versuchte ich durch physikalische und chemische Prozesse aus dem virulenten Materiale eine geeignete Vaccine herzustellen.

Die Erhitzung des Virus ist entweder ungenügend um die Infektion zu verhindern oder hat, im entgegengesetzten Falle, keine immunisierende Wirkung, indem nachträglich mit nicht erhitztem Materiale geimpfte Kaninchen sich eben so rasch, wie andere infizierten.

Blut, Serum und Organextrakte, über Chlorkalzium getrocknet oder mit Chemikalien behandelt, welche das Virus zerstören oder abschwächen, eignen sich nicht zur Schutzimpfung der Tiere, wie aus zahlreichen Versuchen hervorgeht.

Nicht besser waren die Resultate, die ich erzielt, wenn ich das Serum mit Ammoniumsulfat fällte und nachher dialisierte.

Die Infektion wird verzögert, aber nicht verhindert, durch eine vorhergehende Einspritzung von Serum, welches durch langes Verweilen bei Laboratoriumstemperatur avirulent geworden war.

Passive Immunität: Kaninchen, denen 10 Tage nach der letzten Einimpfung steigender Mengen von Serum oder Organextrakt von verminderter oder geschwundener Virulenz Blut entzogen wurde, lieferten kein Immunserum mit schützenden oder heilenden Eigenschaften.

Bei der grossen Empfindlichkeit der Tiere für kleine Virusmengen wurde das Verfahren der Einimpfung kleiner Dosen nicht angewandt. Indem ich die aktive Immunisierung des Kaninchens aufgab, begann ich Ziegen hohe Dosen von Serum kranker Tiere intravenös zu injizieren, indem ich mit 2 Kub.zent. anfing. Zwischen den Injektionen lagen je vier Tage und 10 Tage mach der letzten wurde das Blut aseptisch entnommen und zum Studium der immunisierenden Eigenschaften des Serums verwendet.

Foram absolutamente improficuas as inoculações de soro de cabra administradas antes e depois de infetados os animais, por ocazião das primeiras manifestações morbidas e em periodo mais adiantado de infeção.

Negativos foram ainda os rezultados em outros ensaios de soroterapia, inoculando por via subcutanea, muscular ou peritoneal soro, sangue ou extrato de orgam.

Em proximo trabalho daremos o estudo das lezões anatomo-patolojicas; aproveitando para desde já assinalar, sem que ainda possamos interpretar a prezença de corpusculos redondos de coloração vermelha proxima aos focos inflamatorios nos cortes de cerebro, rim e dos tumores subcutaneos córados pelo metodo de GIEMSA.

Dezembro de 1910.

Die Einspritzung des Ziegenserums vor und nach der Infektion der Tiere, beim Auftreten der ersten Krankheitssymptome und in späteren Infektionsstadien war gänzlich nutzlos.

Auch andere serotherapeutische Versuche mit subkutaner, intramuskulärer oder intraperitonealer Einspritzung von Blut- oder Organextrakt gaben völlig negative Resultate.

In einer demnächst erscheinenden Arbeit werde ich über die pathologisch-anatomischen Befunde berichten und benutze die Gelegenheit, um, ohne eine Deutung derselben geben zu wollen, auf das Vorkommen rotgefärbter runder Körperchen hinzuweisen, welche in der Nähe der entzündlichen Heerde in nach GIEMSA gefärbten Schnitten von Gehirn, Nieren und subkutanen Tumoren vorkommen.

Dezember 1910.

BIBLIOGRAFIA.

SANARELLI, G. ..... 1898 Das myxomatogene Virus. Beitrag zum Studium der Krankheitserreger ausserhalb des Sichtbaren. (Vorläufige Mitteilung). Centralbl. f. Bakt. &c., Bd. XXIII, N. 20, pg. 865—873.

SPLENDORE, A. ..... 1908 Il virus mixomatoso dei conigli. — Nota preventiva. Revista da Sociedade Cientifica de S. Paulo. No. 1—2, pg. 13—15.

Observações sobre algumas hemogregarinas das aves

PELO

Dr. Henrique de Beaurepaire Aragão

Assistente

(Com as estampas 2 e 3)

Beobachtungen über Hämogregarinen von Vögeln

VON

Dr. Henrique de Beaurepaire Aragão

Assistenten am Institut

(Hierzu Tafeln 2 und 3)

A existencia de parazitos, semelhantes as hemogregarinas, em animais de sangue quente começou a ser assinalada a partir de 1905 e hoje o numero delles já é bastante elevado. Nestes animais tais protozoarios encontram-se de preferencia no interior dos globulos brancos, donde a denominação impropria de leucocitozoarios que só cabe aos parazitos do tipo do *L. Ziemanni*.

Para evitar essa denominação pouco acertada, outras têm sido propostas, como a de *hepatozoon* (MILLER 1908 e a de *leucocytogregarina* (PORTER 1909). Preferimos conservar para tais hematozoarios a denominação de hemogregarinas até que conhecimento mais completo do ciclo delles venha determinar a sua colocação definitiva.

Como contribuição para o conhecimento deste grupo particular de hemogregarinas parazitos dos leucocitos, vimos aqui assinalar um certo numero dellas, que observámos desde algum tempo, em aves, nas quais não nos consta terem sido até agora

Das Vorkommen von den Hämogregarinen ähnlichen Parasiten bei warmblütigen Tieren wurde von 1905 an bemerkt und heute ist ihre Zahl schon eine ziemlich grosse. Diese Protozoon zeigen sich bei solchen Tieren besonders im Innern der weisen Blutkörperchen, was zu der unrichtigen Bezeichnung Leukozytozoen geführt hatte, welche nur Paraziten vom Typus des Leukozytozoon *Ziemanni* zukömmt.

Um diese ungeeignete Bezeichnung zu ersetzen, wurden andere vorgeschlagen, wie *Hepatozoon* (MILLER 1908) und *Leucocytogregarina* (PORTER 1909). Ich ziehe vor einen Blutparasiten den Namen Hämogregarinen beizubehalten, bis eine genauere Kenntnis ihres Entwicklungscyclus ihre definitive Unterbringung gestattet.

Als Beitrag zu dieser eigenartigen Gruppe der leukozytenbewohnenden Hämogregarinen mache ich eine Mitteilung über einige von mir seit einiger Zeit beachtete Arten aus Vögeln, bei denen sie, meines

encontradas; ha apenas uma lijeira referencia de LAVERAN (1909) e um trabalho de ADIE (1909), nos quais comtudo esses autores não classificam de hemogregarinas os parazitos observados. Julgando todavia que se trata de hemogregarinas como as nossas, propomos para ellas as denominações de *hemogregarina paddae* e *hemogregarina Adiei*.

As aves, que até agora encontrámos infetadas, são as seguintes: a *sporophila albogularis* SPIX, vulgarmente conhecida por *coleiro* ou *papa capim*, a *Brachyspiza capensis* RIDGW., (*tico-tico*); a *Atticora cyanoleucus*, VIEILL; (*andorinha*) a *Sicalis flaveola* LINN., (*canario da terra*); a *Tanagra palmarum* WIED.; o *Sanhaçú*; a *Poroaria larvata* BODD., (*cardeal*); o *Rhamphocellus brasilius* LINN., (*tié sangue*.) Seguimos a nomenclatura cientifica das aves, adotada pelo prof. IHERING no seu trabalho: *Catalogo da fauna brasileira*, Vol. I. *Aves*. S. Paulo, 1907.

As observações que aprezentamos sobre os parazitos destas aves são rezultado de rapida observação e esperamos poder completal-os ulteriormente.

MATERIAL E TECNICA.

Das aves aqui encontradas infetadas, umas, como os *Sporophila*, *Brachyspiza* e as *Atticora* provem de Manguinhos e arredores; o *Rhamphocoelus* e a *Tanagra* foram caçadas no Xerém, E. do Rio; destas recebemos preparações de sangue e esfregaços de pulmão por obsequio dos nossos colegas Drs. NEIVA e FARIA, aos quaes ficamos muito gratos. Recebemos as *Poroaria* e *Sicalis* do Estado da Bahia por gentileza de nosso colega Dr. FIGUEIREDO DE VASCONCELLOS e do Dr. GUERREIRO DE CASTRO.

A pesquiza do parazito deve ser feita tanto no sangue periferico, como nos organs internos, porque nestes não só se encontram muitas vezes parazitos, quando faltam na periferia, como tambem formas de multiplicação do protozoario. Os esfregaços do pulmão são os que revelam com

Wissens noch nicht gefunden wurden. Es giebt darüber eine kurze Mitteilung von LAVERAN (1900) und eine Arbeit von ADIE (1909), in welchen die Autoren die beobachteten Parasiten aber nicht als Hämogregarinen bestimmen. Da ich aber glaube, dass es sich um solche handelt, schlage ich die Namen *Hämogregarina paddae* und *H. Adie* vor.

Die Vögel, die ich bisher infiziert fand, gehören zu folgenden Arten: *Sporophila albogularis* SPIX, *Brachyspiza capensis* RIDGW., *Atticora cyanoleucus* VIEILL., *Sicalis flaveola*, *Tanagra palmarum*, WIED, *Poroaria larvata* BODD und *Ramphocoelus brasilius* L.

Ich folge die Nomenklatur, welche Dr. v. IHERING in seinem «Katalog der brasilianischen Fauna» (Bd. I, Vögel S. Paulo 1907) gebraucht. Meine Mitteilung über die Hämogregarinen der angeführten Vögel sind das Resultat einer kurzen Beobachtung, welche ich später zu ergänzen hoffe.

MATERIAL UND TECHNIK.

Von den infizierten Vögeln stammen die einen, wie *Sporophila*, *Brachyspiza*, und *Atticora* aus Manguinhos und Umgebung, *Ramphocoelus* und *Tanagra* dagegen aus Xerém im Staate Rio; letzteren erhielt ich von meinen Kollegen Drs. NEIVA und FARIA Blutpräparate und Lungenausstriche, welche ich bestens verdanke. *Poroaria* und *Sicalis* erhielt ich lebend aus dem Staate Bahia durch die Güte meines Kollegen Dr. FIGUEIREDO DE VASCONCELLOS und des Herrn Dr. GUERREIRO DE CASTRO.

Die Parasiten müssen sowohl im peripheren Blute, wie den inneren Organen aufgesucht werden, weil in letzteren nicht nur solche, die im ersteren fehlen, sondern

maior frequencia e abundancia os parasitos no interior dos leucocytos, ao passo que as formas de multiplicação são mais frequentes no intestino, figado e medula ossea e muito raras no pulmão.

O exame a fresco foi feito entre lamina e laminula ou então em gota pendente com sangue ou suco dos organs do animal infetado, ás vezes adicionado dum pouco de soro do proprio passaro, quando era necessario diluir o material. Não se recomenda neste cazo juntar agua fiziolojica, porquanto esta faz com que os parazitos percam rapidamente a sua mobilidade.

Para a fixação do material em esfregaços, empregamos o sublimado alcool, segundo o metodo de SCHAUDINN, e muito frequentemente o alcool metilico. No primeiro cazo, as colorações uzadas foram as hematoxilinas de DELAFIELD e HEIDENHAIN e no segundo o GIEMSA. O sublimado alcool tambem foi empregado para a fixação de organs e para córtes que foram córados pelas hematoxilinas acima mencionadas.

MORFOLOJIA E BIOLOJIA GERAIS DAS HEMOGREGARINAS

Durante a faze adulta as hemogregarinas das aves são parazitos de leucocitos mononucleares. As celulas parazitadas são encontradas com frequencia na circulação periferica, principalmente quando a infeção é abundante. Quando esta é fraca as celulas parazitadas são encontradas quazi só no pulmão da ave, ás vezes ainda na medula ossea e, muito raramente, nos demais organs. Os leucocitos parazitados não aprezentam modificação que possa ser levada á conta da prezença dos protozoarios. As infeções, mesmo as mais intensas, são bem suportadas pelas aves.

Ao passo que as formas adultas das hemogregarinas são encontradas nos leucocitos, os estadios de equizogonia tem logar em celulas epiteliais do intestino, figado, no pulmão e na medula ossea, porém mais raramente nestes dois ultimos organs.

A forma geral dos parazitos adultos

auch besonders die Vermehrungsstadien vorfinden.

Die Untersuchung wurde frisch im Deckglaspräparat oder am hängenden Tropfen mit Blut und Organsaft vorgenommen, wobei oft etwas Blutserum desselben Vogels zugesetzt wurde, wenn eine Verdünnung des Materials nötig war. Ein Zusatz von physiologischem Serum empfihlt sich nicht, weil dabei die Parasiten bald ihre Beweglichkeit einbüssen.

Zur Fixierung der Ausstrichpräparate verwende ich Sublimatalkohol nach SCHAUDINN und häufig auch Methylalkohol. Im ersteren Falle diente zur Färbung Hämotoxylinlösungen nach DELAFIELD und HEIDENHAIN, im letzteren die Methode von GIEMSA. Sublimatalkohol diente auch zur Fixierung der für Schnitte bestimmten Organe, wobei dann angegebenen Hämatoxylinlösungen verwendet wurden.

ALLGEMEINE MORPHOLOGIE UND BIOLOGIE DER HÄMOGREGARINEN.

Im erwachsenen Zustande sind die Hämogregarinen der Vögel Parasiten der mononukleären Leukozyten. Die befallenen Zellen finden sich häufig in der peripheren Zirkulation, besonders wenn eine starke Infektion vorliegt. Ist sie dagegen gering, so werden parasitenhaltigen Zellen nur ir den Lungen oder manchmal noch im Knochenmark, weit seltener aber in den übrigen Organen gefunden. Die befallenen Leukozyten zeigen keine Veränderungen, welche auf die Gegenwart der Parasiten zurückzuführen wären und selbst die stärksten Infektionen werden von den Vögeln gut ertragen.

Während die erwachsenen Hämogregarinen in Leukozyten gefunden werden, findet die Schizogonie in Epithelialzellen des Darmes, der Leber, der Lunge und des

varia entre a de vermiculo, de pequeno crecente ou então oval mais ou menos larga. As hemogregarinas têm dimensões diminutas, não excedendo as maiores a 8,2 μ de comprimento.

No interior dos leucocitos tomam diferentes pozições, ora ocupam apenas o protoplasma, mais ou menos aconchegados ao nucleo, chegando mesmo a aderir a elle, ora aparecem superspostas ao nucleo ou mesmo por dentro da trama nuclear. Não raro, nos cazos de intensas infeções, se encontram 6 e mais parazitos em um só leucocito.

Examinadas a fresco as hemogregarinas quer livres, ou no interior dos leucocitos aparecem com aspeto de pequenos corpusculos branco-amarelados constituidos por protoplasma finamente alveolar, tendo no centro um pequeno nucleo veziculozo, geralmente sem membrana vizivel, e com aspeto mais refrinjente. A cromatina do nucleo, aparece ora sob a forma de massas muito regulares e regularmente dispostas, ora com a maior irregularidade de contorno e colocação.

No protoplasma se veem ás vezes vacuolos e outras vezes, uma pequena massa arredondada refrinjente, atraz do nucleo distinta somente na *hemogregarina Atticorae* e constituida por uma substancia com carateres córantes de plastina. Esta formação é perfeitamente semelhante ao nucleo de plastina, descrito por Prowazek (1908) na *Hemogregarina platidactyli* Billet. No cazo, porém, das hemogregarinas das aves e como tambem observámos no *drepanidium* do *Leptodactylus ocellatus* o nucleo de plastina é unico, ao passo que na hemogregarina observada por Prowazek é duplo.

Examinando a fresco os parazitos, muitas vezes se notam alguns movimentos, quer elles se achem livres, quer no interior dos globulos brancos. No interior destes, os movimentos das hemogregarinas limitam-se a pequenos deslocamentos um pouco bruscos, seguidos de curtos intervallos de repouzo, graças aos quais o parazito consegue libertar-se da celula, no interior da qual se acha. Diferentes fazes da saida

Knochenmarkes statt jedoch seltener in den beiden letzteren Organen.

Die allgemeine Form der erwachsenen Parasiten wechselt zwischen der eines Würmchens eines Halbmondes und eines schmäleren oder breiteren Ovales. Sie haben kleine Dimensionen und selbst die grössten überschreiten die Länge von 8,2 μ nicht.

Im Innern der Leukozyten nehmen sie verschiedene Lagen ein, bald finden sie sich nur im Plasma, dem Kerne mehr oder weniger angeschmiegt, bald scheinen sie auf demselben oder sogar im Innern des Kerngerüstes zu liegen. In Fällen intensiver Infektion finden sich nicht selten 6 oder mehr Parasiten in einer weissen Blutzelle.

Frisch untersucht erscheinen die freien oder in Leukozyten eingeschlossenen Hämogregarinen als kleine gelblichweisse Körperchen, welche aus einem feinwabigen Protoplasma bestehen; in der Mitte liegt ein kleiner, bläschenartiger Kern gewöhnlich ohne deutliche Membran, der stärker lichtbrechend aussieht. Sein Chromatin hat bald die Form sehr regelmässig geformter und angeordneter Klumpen, bald ist es in Umriss und Anordnung höchst irregulär.

Im Protoplasma sieht man manchmal Vakuolen und manchmal hinter dem Kerne ein rundliches lichtbrechendes Körperchen, das nur bei *Hämogregarina atticorae* deutlich und aus einer, wie Plastin färbbaren Substanz besteht. Diese Bildung gleicht völlig dem von v. Prowazek bei *Hämogregarina platydactyli* Billet beschriebenen Plastinkerne. Jedoch ist derselbe bei den Hämogregarinen der Vögel, wie ich auch beim *Drepanidium* von *Leptodactylus ocellatus* beobachtete in der Einzahl vorhanden, während er bei der von v. Prowazek beobachteten Hämogregarine doppelt ist.

Beobachtete man lebende Parasiten frei oder im Innern von Leukozyten, da beobachtete man nicht selten einige Bewegungen. Bei den eingeschlossenen beschränken sie sich auf kleine, ziemlich plötzliche Bewegungen, welche von kurzen

dum parazito do globulo branco vem reprezentadas nas figuras 1 a 12 da est. 1.

Uma vez libertadas do leucocito que parazitavam, as hemogregarinas exibem movimentos mais ativos e mais amplos. Vê-se então o parazito contrair-se para o lado da sua concavidade repetidas vezes e depois bruscamente distender-se, retomando a primitiva forma; graças á rapidez com que executa este movimento, se desloca na preparação, descrevendo pequenos trajetos em arco. Geralmente, na execução destes movimentos, o prazito conserva imobilizada a porção posterior e só a anterior se contrae. Além dos movimentos acima descritos, que são os mais amplos, os parazitos executam ainda pequenas contrações e contorsões sem abandonar quazi a pozição, em que se acham na preparação. Os movimentos das hemogregarinas se repetem por cerca de 3 a 4 horas, com intensidade decrecente, e findo este prazo, dezaparecem de todo mesmo que se observem nas melhores condições de temperatura e de meio de vida.

As preparações córadas revelam, entre os parazitos das diferentes aves, grande semelhança de forma e estrutura, porém, com pequenas variações de uma especie para outra. Córadas pelo Giemsa, as hemogregarinas das aves aprezentam em geral o protoplasma tinto em azul claro, vendo-se nelle, não raro, numerozas granulações vermelhas de substancias de rezerva. O nucleo aprezenta-se formado por massas de cromatina que se córam em vermelho intenso e aprezentam-se ás vezes regularmente dispostas, porém, na regra na maior irregularidade. A existencia de cariozoma e de membrana no nucleo foi distintamente observada apenas na *Hemogregarina atticorae* (figs. 13, 28 est. 1).

Sobre o dezenvolvimento dos parazitos no organismo das aves o que se observa, examinando animais em periodicos diversos da infeção, é que, no inicio desta, ocorre uma multiplicação rapida do parazito no interior de celulas do intestino, figado, pulmão e medula ossea, seguindo-se a ella a penetração das hemagregarinas

Ruhepausen gefolgt sind und es dem Parasiten möglich machen, sich aus der umschliesenden Zelle zu befreien In Fig. 1—12, Tafel I sind verschiedene Phasen des Austrittes eines Parasiten aus einem Leukozyten dargestellt.

Einmal aus der bewohnten Blutzelle freigeworden, zeigen die Hämogregarinen lebhaftere und ausgiebigere Bewegungen. Man sieht dann, wie der Parasit sich wiederholt im Sinne der Konkavität zusammenzieht und dann plötzlich bis zur ursprünglichen Form wieder ausdehnt; in Folge der Geschwindigkeit, mit welcher diese Bewegungen ausgeführt werden, bewegt er sich im Präparate unter Zurücklegung bogenförmiger Strecken. Bei diesen Bewegungen bleibt gewöhnlich der hintere Teil des Parasiten unbeweglich und nur die vordere Partie kontrahiert sich. Ausser den oben beschriebenen stärksten Bewegungen führen die Parasiten noch kleine Kontraktionen und Torsionen aus, ohne ihren Ort im Präparate zu verlassen. Die Bewegungen wiederholen sich in abnehmender Intensität während 3 bis 4 Stunden und verschwinden nach dieser Frist gänzlich, wenn sich auch die Parasiten den günstigsten Temperatur- und Lebensbedingungen befinden.

Gefärbte Präparate zeigen bei den Parasiten der verschiedenen Vögel grosse Aehnlichkeit in Form und Struktur, jedoch mit kleinen Abänderungen von einer Art zur anderen. Nach Giemsa gefärbt zeigen die Hämogregarinen der Vögel ihr Protoplasma von hellem Blau nicht selten mit zahlreichen roten Körnchen von Chromatinmassen zu bestehen, welche sich intensiv rot färben; manchmal sind sie gleichförmig umgeordnet, gewöhnlich jedoch höchst unregelmässig. Das Vorkommen von Kariozom und Membran wurde nur beim Kerne von *Haemogregarina atticorae* deutlich erkannt (Fig. 13, 29, Tafel I).

Wenn man Vögel in verschiedenen Infektionsperioden untersucht, so beobachtet man in Bezug auf die Entwiklung der Parasiten in ihrem Organismus, dass eine rasche Vermehrung in den Zellen des

nos leucocitos e a sua passajem para a circulação.

Esta esquizogonia inicial foi por nós observada em quazi todas as suas fazes na *Hemogregarina sporophylae* (figs. 38 a 46, est. I e 47 a 50 e 59 est. II), e alguns dos estadios na *Hemogregarina Sicalidis* (fig. 72, est. II) e na *Hemogregarina poroariae* (fig. 76, est. II). Até agora não conseguimos surpreender, qual a forma inicial da infeção da ave. A julgar pelas verificações, feitas por Miller no *Hepatozoon perniciosum*, é de prever que seja um produto da evolução esporogonica do parazito em um hospedeiro intermediario. Os elementos que se vão multiplicar por esquizogonia penetram no protoplasma da celula epitelial, aumentam rapidamente de volume, tomam a forma arredondada e entram em rapida multiplicação nuclear. O protoplasma da celula é rapidamente invadido pelo parazito, hipertrofia-se e o nucleo é recalcado. A membrana, que a principio limita o parazito, dezaparece e este se expande por todo o protoplasma da celula sob a forma de uma grande massa de cromatina com abundantes e irregulares corpusculos. Finalmente a esquizogonia se termina pela fragmentação da massa protoplasmica em numerozissimos merozoitos pequenos com forma de virgula larga. Estes são constituidos por um protoplasma, sem vacuolos, nem grandes alveolos, e aprezentam no interior o nucleo sob a forma de duas pequenas massas de cromatina, ligadas entre si por pequena faixa de substancia acromatica. Não raro se vê, junto ao nucleo, uma pequena porção de substancia plastinica (nucleo de plastina ?) especialmente distinta nos preparados córados pelo Giemsa (figs. 38-41. est I e 59, est. II).

Estes pequenos merozoitos penetram nos leucocitos, onde a principio conservam o seu aspeto carateristico (figs. 52, 53, 74 e 75, est. II); aos poucos, porem, aumentam de volume e adquirem a morphologia que descrevemos para as formas adultas.

No organismo das aves não conseguimos observar outra modalidade de dezen-

Darmes, der Leber, der Lunge und des Knochenmarks stattfindet, auf welche das Eindringen der Hämogregarinen in die Leukozyten und ihr Uebertritt in die Zirkulation folgt.

Diese anfängliche Schizogonie wurde von mir in beinahe sämmtlichen Phasen der *H. sporophilae* (Fig. 38—46, Taf. I, 47—50 & 59, Taf. II) beobachtet, dagegen nur in einigen derselben bei *H. sicalidis* (Fig. 72, Taf. II) und *H. poroariae* (Fig. 76, Taf. II). Bis jetzt gelang es nicht, die Form aufzudecken, welche bei den Vögeln die Infektion einleitet. Nach den von Miller bei *Hepatozoon perniciosum* gemachten Erhebungen kann man erwarten, dass es sich um das Produkt einer Sporogonie des Parasiten in einem Zwischenwirt handelt. Die Elemente, welche sich zur Schizogonie vorbereitet, dringen in das Protoplasma der Epithelzelle, vergrössern sich rasch, runden sich ab und zeigen eine schnelle Kernvermehrung. Das Protoplasma der Zelle wird von dem Parasiten bald invadiert, und hypertrophiert, während der Kern bei Seite geschoben wird. Die Membran, welche anfangs den Parasiten abgrenzt, verschwindet und derselbe breitet sich im ganzen Zellprotoplasma aus, in Form eines grossen Klumpens mit zahlreichen Chromatinkörperchen von unregelmässiger Form. Endlich kommt die Schizogonie zum Abschluss, indem das Protoplasma in sehr zahlreiche kleine Merozoiten von breiter Kommaform zerfällt. Diese bestehen aus einem Plasma ohne Vakuolen oder grössere Alveolin und enthalten einen Kern in Form zweier kleiner Chromatinmassen, die unter sich, durch einen Streifen achromatischer Substanz verbunden sind. Nicht selten sieht man nahe am Kern einen kleinen Teil von Plastinsubstanz (Plastinkern), der in nach Giemsa gefärbten Präparaten deutlich ist (Taf. I, Fig. 38—41, Taf. II, Fig. 59).

Diese kleinen Merozoiten dringen in die Leucozyten ein, wobei sie anfangs ihr charakteristisches Aussehen beibehalten (Taf. II, Fig. 52, 53, 74 & 75); nach und nach vergrössern sie sich aber, wobei sie

volvimento dos parazitos, além da que acabamos de referir. Tambem não conseguimos, até aqui, observar nas hemogregarinas das aves, diferenças morfolojicas ou córantes que autorizem a distinção de sexualidade.

Foram até aqui negativas as nossas pesquizas para obter a infeção de aves da mesma especie e de especies diversas, quer por inoculação por variadas vias, quer por injestão de material de diferentes organs de aves infetadas.

Igualmente não foram, até aqui, coroadas de sucesso as tentativas, para obter a transmissão dos parazitos dum animal a outro, por meio dum hospedeiro intermediario.

Tendo encontrado numerozos *dermanyssus* em ninhos de andorinhas, fizemos diversas tentativas de transmissão tanto da *Haemogregarina atticorae*, como com a *Haemogregarina sicalidis*. Apenas observámos que os *dermanyssus*, que sugavam as aves infetadas, aprezentavam até 8 dias depois, no aparelho dijestivo, hemogregarinas ainda moveis; não nos foi, porem, dado observar qualquer evolução dellas nem fenomenos de fecundação Com mosquitos não colhemos tambem até agora, rezultado algum favoravel.

Passamos a dar pequenas descrições das especies de hemogregarinas, que observámos nas aves, e que, embora guardando entre si estreito parentesco, são, ao nosso ver, especificamente diferentes. As especies, que aprezentamos neste trabalho são as seguintes:

1. H. *atticorae*; 2. H. *ramphoceli*; 3. H. *poroariae*; 4. H. *sporophilae*; 5. H. *tanagrae*; 6. H. *sicalisis*; 7. H. *brachyspizae*.

Hemogregarina atticorae, n. sp.

(Figs. 13 a 28. Est. I)

Esta especie é encontrada na *atticora cyanoleucus*, VIEILL, vulgarmente denominada *andorinha*. Os exemplares infetados, em numero de 3 entre muitos examinados, foram apanhados em Manguinhos. Parasit leichtgekrümmt, keulen- oder

die für den erwachsenen Parasiten bestimmte Form annehmen.

Es gelang mir nicht im Körper der Vögel eine andere Entwicklungsweise, als die eben beschriebene zu beobachten. Ebensowenig gelang es mir, bei den Hämogregarinen der Vögel in Form und Färbung Unterschiede zu beobachten, welche als Geschlechtsdifferenzen gelten könnten.

Meine Uebertragungsversuche bei Vögeln derselben oder verschiedener Arten sowohl durch Einimpfung auf verschiedenen Wegen, als auch Fütterung mit infizierten Organen haben bisher nur negative Resultate ergeben. Ebenso erfolglos waren bisher die Versuche, den Parasiten durch einen Zwischenwirt von einem Vogel auf den anderen zu übertragen.

Da ich in einem Schwalbenneste zahlreiche *Dermanyssus* gefunden hatte, machte ich verschiedene Uebertragungsversuche mit *Haemogregarina atticorae* und *H. sicalidis*. Ich beobachtete nur, dass die Exemplare des *Dermanyssus*, welche an infizierten Vögeln gesaugt hatten, noch acht Tagen nachher in Verdauungsapparat bewegliche Hämogregarinen enthielten; doch konnte ich weder eine Weiterentwicklung, noch Fekundationserscheinungen beobachten. Ebenso ungünstig sind die bisher mit Mücken erzielten Resultate.

Ich gebe nun kurze Beschreibungen der von mir bei Vögeln beobachteten Arten, welche, meiner Ansicht nach, obwohl nahe verwandt, doch spezifisch verschieden sind. In dieser Studie führe ich nachfolgende Arten an: 1. H. *atticorae*; 2. H. *Ramphocoeli*; 3. H. *poroariae*; 4. H. *sporophilae*; 5. H. *tanagrae*; 6. H. *sicolidis*; 7. H. *brachyspizae*.

Haemogregarina atticorae n. sp.

(Tafel I, Fig. 13-28)

Diese Art wird bei einer gemeinen Schwalbe, *Atticora cyanoleucus* VIEILL. gefunden. Die 3 infizierten Exemplare wurden in Manguinhos erbeutet

Parasit leichtgekrümmt, keulen- oder

zito em forma de clava, lijeiramente encurvada ou de vermiculo, medindo 6,5 μ de comprimento por 2,9 μ de largura. Protoplasma finamente alveolar, córando-se em azul palido pelo GIEMSA.

Nucleo, colocado adiante da metade do comprimento do corpo e constituido por um pequeno cariozoma central, quazi sempre unico; este se liga por finos filamentos acromaticos a numerozas pequenas massas de cromatina, situadas na periferia da zona nuclear, junto a delgada membrana, que limita o nucleo externamente. Atraz do nucleo e colada a elle se vê sempre, muito distintamente, uma pequena massa arredondada, que se córa em azul esverdeado pelo GIEMSA, o chamado nucleo de plastina. No leucocito parazitado a hemogregarina é encontrada no protoplasma, deitada sobre o nucleo ou mesmo colocada um pouco por dentro duma delgada camada de trama nuclear.

Hemogregarina rhamphocoeli, n. sp.

(Figs. 29 a 34. Est I)

Esta hemogregarina é parazito do *Rhamphocellus brasilius* LINN., cuja denominação popular é *tié sangue*. Os exemplares infetados foram encontrados no Xerém, E. do Rio.

A forma do parazito varia entre a de clava, de vermiculo irregular ou de elipse; as dimensões ocilam entre 8,2 μ de comprimento por 3,3 μ de largura. Protoplasma finamente alveolar e córando-se em azul claro, pelo GIEMSA. O nucleo é muito irregular e aprezenta-se constituido por pequenas massas de cromatina, ligadas entre si por porções acromaticas. A zona nuclear ocupa um certo espaço, sem limites distintos do protoplasma do parazito. Algumas massas de cromatina se vêm completamente izoladas no protoplasma.

Hemogregarina poroariae, n. sp.

(Figs. 35 a 37. Est. I)

E' parazito da *Poroaria larvata* BODD., vulgarmente conhecido pelo nome

vurmförmig von 6,5 μ Länge und 2,8 μ Breite. Protoplasma feinwabig, bei GIEMSA-färbung hellblau. Kern vor der Körpermittle fast immer nur mit einem kleinen zentralen Karyosom, welches durch feine achromatische Fäden mit zahlreichen Chrotinklümpchen verbunden ist; diese liegen der Peripherie der Kernsaftzone dicht an der feinen Membran, welche den Kern nach aussen begrenzt. Hinter dem Kerne und mit ihm verklebt sieht man immer sehr deutlich ein rundliches Körperchen, das sich nach GIEMSA grünlich brau färbt, den sogenannten Plastinkern. Die Hämogregarine wird im Protoplasma des Leukozyten gefunden, auf dem Kerne oder selbst unter einer dünnen Schicht des Kerngerüstes gelegen.

Haemogregarina rhamphocoeli n. sp.

(Tafel I, Fig. 29 34)

Diese Hämogregarine ist ein Parasit des *Ramphocoelus brasilius* L. Die infizierten Exemplare wurden in Xerém, im Staate Rio gefunden.

Die Gestalt des Parasiten variiert zwischen der Form einer Keule, eines Würmchens oder einer Elipse; die Länge schwankt zwischene 8,2 μ lang bei einer Breite von 3,3 μ. Protoplasma feinwabig, nach GIEMSA hellblau gefärbt. Der sehr unregelmässige Kern besteht aus Chromatinklümpchen, welche durch achromatische Substanz verbunden sind. Die Kernsaftzone zeigt eine gewisse Breite, ist aber von dem Protoplasma des Parasiten nicht deutlich abgegrenzt. In letzterem sieht man einige ganz isolierte Chromatinmassen.

Haemogregarina poroariae n. sp.

(Taf. 1, Fig. 35-37)

Parasit der hier als *Cardinal* bekannten *Poroaria larvata* BODD.

de *cardeal*. Todos os numerozos exemplares examinados estavam infetados; provinham dos Estados da Bahia e de Minas.

Parazito de forma oval, quazi regular, medindo 5,8 μ de comprimento por 3,3 μ de largura.

Protoplasma finamente alveolar córando-se em azul pelo GIEMSA. Nucleo irregular, constituido por diversas massas de cromatina, um pouco para traz da metade do comprimento do parazito. Parazito colocado no protoplasma do leucocito. Foram observadas formas de esquizogonia na medula ossea (fig. 76, est. II).

Hemogregarina sporophilae, n. sp.

(Figs. 38 a 46. Est. I, e figs. 47 a 50. Est. II)

E' encontrada na *Sporophilae albogularis* SPIX, cujo nome vulgar é *coleiro* ou *papa capim*.

Quazi todos os exemplares que se examinam no Rio aprezentam-se infetados.

Parazitos pequenos em forma de clava, virgula, ou de oval, ás vezes, bastante largo, medindo 6 μ de comprimento por 3 μ de largura.

Protoplasma finamente alveolar, córando-se em azul claro pelo GIEMSA e ás vezes provido de numerozos granulos vermelhos de substancias de reserva. Nucleo dos parazitos adultos de forma muito irregular, sem contornos nitidos, constituidos por massas de cromatina, mais ou menos numerozas. Os parazitos se encontram no protoplasma dos leucocitos. Nas formas jovens o nucleo é compato. A esquizogonia deste parazito tem logar no figado e no intestino.

Hemogregarina tanagrae

(Figs. 60 a 63. Est. II)

Parazito da *Tanagra palmarum* WIED., vulgarmente chamado *sanhaçú*. As aves, em que foram encontrados os parazitos, foram caçadas no Xerém, E. do Rio.

Parazito, em forma de elipse estreita ou lijeiramente sigmoide medindo 6,3 μ de comprimento por 3 μ de largura. Proto-

Die zahlreiche untersuchten Exemplare aus den Staaten BAHIA und MINAS waren sämmtlich infiziert.

Kleine Formen von der Gestalt einer Keule oder eines Kommas oder eiformig; 6 μ lang bei einer Breite von 3 μ.

Protoplasma feinwabig, nach GIEMSA hellblau gefärbt. Unregelmässiger, aus verschiedenen Chromatinklumpen bestehender Kern, etwas hinter der Mitte des Parasiten gelegen. Parasit im Protoplasma der Leukozyten Schizogonieformen (Taf. II, Fig. 76) wurden in Knochenmark gefunden.

Haemogregarina sporophilae n. sp.

(Taf. I, Fig. 38-46, Taf. II, Fig. 47-58)

Parasit der *Sporophila albogularis* SPIX. Fast alle in Rio untersuchten Exemplare erwiesen sich infiziert.

Kleine Formen von der Gestalt einer Keule oder eines Kommas oder eiförmig und manchmal ziemlich breit. Läng 6 μ bei einer Breite von 3 μ.

Feinwabiges, nach GIEMSA hellblau gefärbtes Protoplasma, oft mit zahlreichen roten Körnern von Reservesubstanzen. Kern der erwachsenen Parasiten sehr unregelmässig und nicht scharf begrenzt, von einer wechselnden Anzahl von Chromatinmassen gebildet. Bei jungen Formen ist der Kern kompakt. Die Parasiten befinden sich im Protoplasma der Leukozyten; die Sporogonie findet in Darm und Leber statt.

Haemogregarina tanagrae

(Taf. II, Fig. 60-63)

Parasiten von *Tanagra palmarum* WIED. Die infizierten Vögel wurden in Xerém, im Staate Rio erbeutet.

Körperform schmal elliptisch oder leicht sigmoid 6,3 μ lang und 3 μ breit. Protoplasma wabig, manchmal mit Reser-

plasma alveolar, ás vezes provido de substancias de rezerva. Nucleo de forma irregular, constituido por massas diversas de cromatina, reunidas entre si. Parazitos colocados no protoplasma dos leucocitos.

Hemogregarina sicalidis, n. sp.

(Figs. 58, 64 e 74. Est. II)

Parazito da *sicalis flaveola* LINN., vulgarmente conhecido por *canario da terra*. As aves, infetadas em grande numero provinham do Estado da Bahia.

Parazito em forma de oval irregular, de clava ou de crecente, medindo 5,5 μ por 3,2 μ e menos ainda.

Protoplasma alveolar, córando-se pelo GIEMSA em azul e ás vezes com tons rozeos, devido a abundantes de substancias de rezerva. Nucleo mal definido, constituido por massas irregulares de cromatina, ora agrupadas, ora quazi completamente izoladas. A's vezes, se encontram muitos parazitos no mesmo leucocito e neste cazo ocupam tanto o protoplasma, como o nucleo. Foram observadas formas de esquizogonia no pulmão do passaro (fig. 72, est. II).

Hemogregarina brachyspizae, n. sp.

(Figs. 75 a 79. Est. II)

Parazito da *Brachyspiza capensis* RIDG., vulgarmente chamado *tico-tico*.

Todos os individuos apanhados em Manginhos são infetados. A hemogregarina se aprezenta em geral em forma de oval eu elipse irregulares e mede 6 μ de comprimento por 3 μ de largura.

Protoplasma é finamente alveolar, que se córa em azul pelo GIEMSA e não raro aprezenta-se carregado de substancias de reserva. Nucleo muito irregular e constituido por massas de cromatina ligadas entre si. Formas jovens com nucleo compato. O parazito é encontrado no protoplasma dos leuccocitos,

Manguinhos, Março de 1911.

vesubstanzen. Unregelmässig geformter Kern, aus verschiedenen, unter sich verbundenen Chromatinmassen bestehend. Parasiten im Protoplasma der Leukozyten.

Haemogregarina sicalidis

(Taf. II, Fig. 58, 64 & 74)

Parasit von *Sicalis flaveola* L. als einheimischer Kanarienvogel bekannt. Die grossenteils infizierten Vögel stammten aus dem Staate Bahia.

Gestalt unregelmässig eiförmig oder in der Form einer Keule oder eines Halbmondes 5,5 μ lang und höchstens 3,2 μ breit.

Das wabige Protoplasma färbt sich nach GIEMSA blau, und manchmal wegen der reichlich vorhandenen Reservesubstanzen in rötlichen Tönen. Kern schlecht umschrieben, aus vereizelten oder gruppenbildenden, unregelmässigen Chromatinsubstanzen gebildet. Manchmal finden sich viele Parasiten im selben Leukozyten und nehmen dann sowohl das Protoplasma, wie den Kern ein. Schizogonieformen wurden in den Lungen der Vögel gefunden (Taf. II, Fig. 72).

Haemogregarina brachyspizae

(Taf. II, Fig. 75-79)

Parasiten von *Brachyspiza capensis* RIDG., hier als *Tico-tico* bekannt. Alle in Manguinhos gefangenen Exemplare waren infiziert. Körper unregelmässig eiförmig oder eliptisch 6 μ lang und 3 μ breit.

Das feinwabige Protoplasma färbt sich nach GIEMSA blau und ist nicht selten mit Reservesubstanzen beladen. Der unregelmässige Kern aus miteinander verbundenen Chromatinmassen bestehend. Jüngere Formen mit kompaktem Kerne. Parasit im Protoplasma der Leukozyten.

Manguinhos, März 1911.

EXPLICAÇÃO DAS ESTAMPAS

ESTAMPA I.

Figs. 1 a 12. Diferentes fazes da saida duma haemogregarina (*h. sporophilae*) dum leucocito. Zeiss Comp. ocular compens. 6, Object apochromat. 2 mm.

Figs. 13 a 46. Dezenhadas com a camara clara de Abbé e com o sistema ocul. compensad. 12 onject apochromat. 2 mm. Coloração pelo GIEMSA de todos os parazitos salvo os das figs. 38 a 41 para as quais foi utilizado a hematox. de HEIDENHAIN.

Figs. 13 a 28. *Haemogregarina atticorae.*
Figs. 29 a 34. » *rhamphocoeli.*
Figs. 35 a 37. » *poroariae.*
Figs. 38 a 46. » *sporophilae* esquizogonia.

ESTAMPA II.

Figs. 47 a 79. Dezenhadas da mesma forma que as figs. 13 a 46 da pajina precedente. Todos os preparados foram córados pelo GIEMSA salvo o n. 70 em que a coloração empregada foi a hematox. de HEIDENHAIN.

Figs. 47 a 50. *Haemogregarina sporophilae*; esquizogonia.

Figs. 51 a 58. *Haemogregarina sporophilae*; parazitos jovens e adultos no interior dos leucocitos.

Fig. 59. Jovens parazitos provenientes duma esquizogonia.

Figs. 60 a 63. *Haemogregarina tanagrae.*

Figs. 64 a 71 e 73, 74. *Haemogregarina sicadilis.*

Fig. 72. *Haemogregarina sicadilis*; forma esquizogonica.

Figs 74, 75, 77 a 79. *Haemogregarina brachyspizae.*

Fig. 76. *Haemogregarina brachyspizae*; forma esquizogonica.

ERKLÄRUNG DER TAFELN.

TAFEL I.

Fig. 1—12. Verschiedene Phasen des Austrittes der *sporophilae* aus einem Leukozyten. Zeiss Comp. oc. 6, Apochr. 2 mm.

Fig. 13—46. Mit Comp. oc. 12, Apochr. 2 mm. und Abbéschem Zeichnungsapparat aufgenommen. Alle Fig. nach GIEMSA, nur 38 & 41 mit Hämatoxylin nach HEIDENHAIN gefärbt.

Fig. 13—28. *Haemogregarina atticorae.*
Fig. 29—34. » *rhamphocoeli.*
Fig. 35—37. » *poroariae.*
Fig. 38—46. » *sporophilae*, Schizogonie.

TAFEL II.

Fig. 47—79. Aufnahme, wie bei Fig. 13—46 auf Tafel I. Färbung nach GIEMSA nur Fig. 70 nach HEIDENHAIN.

Fig. 47—50. *Hemogregarina sporophilae*; Schizogonie.

Fig. 51—58. *Hemogregarina sporophilae*; Junge und erwachsene Parasiten im Innern der Leukozyten.

Fig. 59. Junge Formen von Schizogonie herrührend.

Fig. 60—63. *Hemogregarina tanagrae.*

Fig. 64—71, 73 & 74. *Hemogregarina sicalidis.*

Fig. 72. *Hemogregarina sicalidis*; Schizogonie.

Fig. 74, 75, 77 & 79. *Hemogregarina brachyspizae.*

Fig. 76. *Hemogregarina brachyspizae*; Schizogonieform.

BIBLIOGRAFIA.

ADIE ..... 1909 Note on a parasite in the sparrow. Indian Medical Journal, p. 176.

LAVERAN ..... 1900 Au sujet de l'hématozoaire endoglobulaire de *Padda Orizivora*. Compt. Rend. d. 1. Soc. de Biologie 13—1—00.

MILLER W. ..... 1908 *Hepatozoon perniciosum* n. g. n. sp.; a hamogregarine pathogenic for white rats. Bull. n. 46. Hyg. Lab. U.S.A. Public Health and Mar. San Dept.

PORTER, A. ..... 1909 The Leucocytozoa. Science Progress n. 14.

PROWAZEK, S. v. ..... 1907 Untersuchungen über Haemogregarinen. Arbeit. a. d. Ksl. Gesundheitsamte. Vol. 26, p. 36.

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
23
24
25
22
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
38
36
39
41
42
43
37
40
44
45
46

Castro Silva. del.

Novas contribuições para o conhecimento das Pangoninas e Chrysopinas do Brazil

PELO

Dr. Adolpho Lutz.

(Com a estampa 4)

Neue Beitraege zur Kenntniss der Pangoninen und Chrysopinen Brasiliens

VON

Dr. Adolph Lutz.

(Mit Tafel 4)

Faz hoje alguns anos que conclui em São Paulo uma monographia das nossas Pangoninas e Chrysopinas que apareceu nos « Zoologische Jahrbücher » (Suplemento X, Folheto 4, 1909) com o titulo: « Tabaniden Brasiliens und einiger Nachbarstaaten » sendo por engano suprimida a especificação « Erster Teil ». Dei boas estampas em côres (*) de 13 especies de Chrysopinas e de 43 especies e 2 variedades de Pangoninas e reproduzi com adições necessarias as descrições existentes. As especies novas bastante numerozas foram minuciozamente descritas, de modo que nesta ocazião o asunto parecia esgotado. Todavia, como se podia esperar, hoje os nossos conhecimentos do mesmo já se acham outra vez bastante aumentados.

Ainda em São Paulo colecionei duas especies novas de Chrysopinas do noroeste do Estado e aqui mais duas Pangoninas e um *Chrysops* dos Estados do Rio de

(*) Infelizmente as estampas não dão as dimensões, indicadas nos orijinais, mas estas resultam das descrições no texto.

Vor einigen Jahren schloss ich in São Paulo eine Mongraphie der hiesigen Pangoninen und Chrysopinen ab, welche unter dem Titel: « Tabaniden Brasiliens und einiger Nachbarstaaten » in den Zoologischen Jahrbüchern (Suppement X, Heft 4, 1909) erschien, wobei der Zusatz: « Erster Teil » aus Versehen wegblieb. Von Chrysopinen wurden 13 Arten, von Pangoninen 43 und 2 Varietäten abgebildet. (*) Die vorhandenen Beschreibungen wurden reproduziert und ergänzt und die zahlreichen neuen Arten genau beschrieben, so dass der Zweck der Arbeit als erreicht gelten konnte. Doch haben sich, wie vorauszusehen, seither unsere Kenntnisse des Gegenstandes nicht unbedeutend vermehrt.

Noch in São Paulo sammelte ich zwei neue Chrysopinen aus dem wärmeren Nordwesten des Staates und von hier aus zwei neue Pangonien und einen Chrysops

(*) Leider blieb auf den Tafeln die Bezeichnung der Grössenverhältnisse weg, doch sind dieselben durchwegs aus dem Texte zu ersehen.

Janeiro, Minas e Matto Grosso. No instituto encontrei mais duas Pangoninas, das quais foi uma descrita como *Erephopsis auricincta* no primeiro numero desta revista e durante a minha estadia chegou muito material, parte de zonas afastadas e pouco estudadas, contendo varias novas especies, de modo que esta comunicação rejistra outra vez umas doze especies novas. Estas já podiam ser determinadas pelas figuras bastante exatas, mas andam tambem acompanhadas de descrições minuciozas que devem ser consultadas de preferencia quando houver qualquer pequena differença. Junto tambem notas sobre outras especies e os lugares onde foram encontradas.

Principío com a descrição das especies novas :

1. **Erephopsis nubiapex n. sp.** (Fig 1).

Comprimento total 15, largura maior 6 mm.

Tromba preta, de seis milimetros de comprimento ; palpos castanhos ; antenas com os dois primeiros articulos castanho-acinzentados, o terceiro ferujinozo com a parte apical enegrecida ; face inferior, frons e vertice castanho-acinzentados, cobertos de pó amarelo ; no meio do vertice ha pêlos castanho-escuros ; ocelos castanho-escuros muito distintos ; olhos escuros, com pêlos finos, mas bastante compridos, de brilho dourado ; barba cinzento-amarela, arruivada na parte media ; occiput com as marjens oculares amarelo-claro, o resto mais enegrecido, coberto de pêlos dourados.

Torax em cima com fundo escuro, coberto de pubecencia louro-arruivada, curta no meio e tornando-se mais comprida dos lados ; a face ventral aprezenta as mesmas côres e o escutelo parece-se com o escudo.

Abdome em cima castanho-escuro, as marjens posteriores dos primeiros aneis com pêlos apicais dourados e os ultimos segmentos quazi completamente cobertos de pêlos iguais ; a face ventral corresponde á dorsal.

in den Staaten Rio de Janeiro, Minas und Matto Grosso. Im Institute fand ich zwei neue Pangoninen, von denen eine in dieser Zeitschrift (Heft I) als *Erephopsis auricincta* beschrieben wurde, und während meiner Arbeiten daselbst traf Material aus verschiedenen, zum Teil entlegenen und wenig untersuchten Gegenden ein, welches eine Anzahl neuer Arten ergab, so dass in der heutigen Mitteilung deren zwölf verzeichnet werden konnten. Obgleich die Genauigkeit der Zeichnungen für die Bestimmung hinreicht, sind noch eingehende Beschreibungen beigegeben, welche für kleine Abweichungen vorzugsweise zu berücksichtigen sind. Ausserdem füge ich noch einige andere Notizen und Fundortsangaben bei.

Ich beginne mit der Beschreibung der neuen Arten :

1. **Erephopsis nubiapex n. sp.** (Fig. 1).

Gesamtlänge 15, grösste Breite 6 mm.

Rüssel schwarz, 6 mm. lang ; Palpen braun ; Antennen an den ersten zwei Gliedern graubraun, das dritte rostrot und im Endteile schwärzlich ; Untergesicht, Stirne und Scheitel graubraun und gelb bestäubt, in der Mitte des Scheitels dunkelbraune Haare ; Ocellen sehr deutlich, dunkelbraun ; Augen dunkel mit feinen, aber ziemlich langen, goldschimmernden Haaren ; Bart graugelb, im mittleren Teile rötlich ; Hinterkopf an den Augenrändern hellgelb, der Rest schwärzlich, mit goldenen Haaren besetzt.

Thorax, oben auf braunem Grunde mit blondrötlicher Pubescenz, die in der Mitte nur kurz ist, aber nach aussen zu länger wird ; unten dieselben Farben, wie oben ; auch das Scutellum, wie der Rückenschild.

Abdomen oben dunkelbraun, die Hinterränder der ersten Ringe und die letzten fast ganz mit goldglänzendem Haaren besetzt ; die Bauchseite dem Rücken entsprechend.

Pernas de côr ocracea tornando-se ferrujinoza acima dos joelhos e nos pés, cujos tarsos têm o apice pardo-escuro; coxas e femures cobertos de pubecencia escura.

Azas com côr amarela, um tanto ferrujinoza, na costa e nas celulas bazais, o resto de amarelo, ora mais claro, ora mais acinzentado; na parte apical ha uma nuvem um tanto enegrecida; a côr das nervuras é ferujinoza ou pardo-enegrecida, as transversais superiores são tarjadas de escuro; primeira celula da marjem posterior e a anal fechadas um pouco antes da marjem; a nervura forquilhada com apendice curto, porém distinto. Halteres pardos, um pouco mais claros na extremidade do capitulo.

Na coleção do instituto existem duas femeas de Barbacena (Minas), onde foram colecionadas pelo Dr. Belisario Penna em março de 1907.

2. Erephopsis Soledadei n. sp.

Comprimento total (sem a proboscide) cerca de 14 mm.

Proboscide preta, com um comprimento de 6 mm. no minimo; palpos de forma tipica, de côr parda, com a ponta preta; antenas: os dois primeiros articulos pardo-escuros, com pêlos pretos, o terceiro ferrujinozo-claro; face preta, em parte mate, em parte brilhante, formando uma especie de calozidade abaixo das antenas; fronte e vertice preto mate; calozidade frontal pouco distinta, apenas um pouco mais lustroza; olhos pretos, com grande numero de pêlos esbranquiçados, curtos e finos; barba branca; pêlos do occiput mais escuros, porém com brilho branco.

Torax: em cima glabro, de côr preta, com estrias pouco distintas; acima da raiz das azas e ao lado do escutelo ha pêlos branco-amarelados, bastante compridos, em baixo ha outros, pretos no meio e branco-amarelados em baixo da raiz das azas.

Abdome: em cima preto, apenas um pouco castanho nos dous primeiros segmentos e na marjem posterior dos outros, com alguns pêlos esbranquiçados no bordo pos-

Beine ockerfarben, oberhalb der Knie und an den Füssen ins Rostfarbene übergehend, die Endabschnitte der Tarsen schwarzbraun; Hüften und Schenkeel mit dunklem Flaumhaar bedeckt.

Flügel an der Costa und in den Basalzellen gelb mit roströtlichem Tone, das übrige teils heller gelb, teils mehr grau, im Apikalteile eine dunklere, ins schwärzliche übergehende Wolke; Adern roströtlich oder schwärzlich braun; obere Queradern dunkler gesäumt; erste und vierte Hinterrandszelle etwas vor dem Rande geschlossen, die Gabelader mit kurzem, aber deutlichem Anhange. — Halteren braun, am Endteile des Köpfchens etwas heller.

Die Sammlung des Institutes enthält zwei Weibchen, aus Barbacena (Minas), welche im März 1907 von Dr. Belisario Penna gesammelt wurden.

2. Erephopsis Soledadei n. sp.

Gesammtlänge (ohne den Rüssel) ca. 14 mm.

Rüssel wenigstens 6 mm. lang, schwarz, Palpen von typischer Form, braun,mit schwarzer Spitze; Antennen: die Basalglieder dunkelbraun mit schwarzen Haaren, das Endglied hell rostrot; Gesicht schwarz, zum Teile matt, zum Teile glänzend und unterhalb der Antennen eine Art Schwiele bildend: Stirne und Scheitel mattschwarz, die Stirnschwiele nicht sehr deutlich, nur etwas glänzend; Augen schwarz, mit zahlreichen weisslichen Härchen; Bart weiss, am Hinterkopf dunklere, aber weiss glänzend Haare.

Thorax oben unbehaart, schwarz, mit undeutlichen Striemen: über der Flügelwurzel und neben dem Schildchen stehen ziemlich lange gelblichweisse Haare, unten sind dieselben in der Mitte schwarz und an der Flügelwurzel gelbweisslich.

Abdomen: oben schwarz, nur an den beiden ersten Segmenten und am Hinterrande der übrigen etwas kastanienbraun, mit einigen weisslichen Härchen am Hinterrande der beiden ersten und des fünften Abschnittes: an letzterem fehlen

terior do quinto e dos dous primeiros aneis; no quinto faltam na linha media, no sexto e setimo existem apenas nos bordos laterais; em baixo a côr é como em cima, os pêlos finos e esbranquiçados das marjens posteriores formam cintas estreitas, mais completas no segundo e quarto segmento.

Pernas uniformemente pretas, apenas os empodios de côr parda ferrujinoza.

Azas lijeiramente enfumaçadas; a costa e as nervuras limitando as celulas bazaes e anal de cor ferrujinea; o ramo anterior da nervura forqueada com appendice curto; primeira e quarta celula posterior fechadas pouco antes da marjem; esquamula pardo-amarelada com marjem mais clara; halteres com pedunculo escuro e extremidade do capitulo mais clara.

Descrito de tres femeas, apanhadas em Minas entre Theophilo Ottoni e as marjens do Rio Doce pelo Dr. Soledade, á quem a especie foi dedicada. Os exemplares eram todos um pouco defeituozos.

Uma figura será dada em outra publicação.

3. Erephopsis albitaeniata n. sp. (Fig. 4).

Comprimento total ca. de 12 mm., côr principal pardo.

Tromba pardo-escura, de 7 mm. de comprimento, labelos pretos ou ferrujinozos; palpos castanhos, o segundo articulo, comprido e fino, com apice enegrecido; antenas pardas, com pêlo preto nos segmentos bazaes, o terceiro de uma côr ferrujinoza ou testacea viva. Face com o fundo lustrozo, côr castanha, ora mais amarelada, ora mais enegrecida; ocelos distintos; frons pardacenta, vertice um pouco mais enegrecido, com pêlos pretos; olhos escuros com pêlos brancos; occiput com enduto prateado sobre fundo preto e com pêlos escuros na parte superior; barba branca.

Torax em cima côr de veado, com faxas lonjitudinais mal definidas e mais ou menos enfuscadas; escutelo pardo-ocraceo; na parte anterior do escudo ha cilios marjinais escuros; da raiz das azas até á baze do escutelo ha de cada lado uma faxa marjinal de pêlos brancos, lijeiramente

sie in der Mitte und am sechsten und siebenten stehen sie nur an den Seitenrändern: unten ist die Farbe wie oben, die weisslichen Härchen der Hinterränder bilden enge Binden, die am zweiten und vierten Abschnitte vollkommener sind.

Beine gleichmässig schwarz, nur die Empodien bräunlich rostrot.

Flügel leicht rauchgrau, die Costa und die Adern, welche Basalzellen und Analzelle begrenzen, rostgelb: Vorderast der Gabelader mit kurzem Anhang: erste Hinterrands- und Analzelle kurz vor dem Rande geschlossen. Schüppchen bräunlichgelb, mit hellerem Rande; Halteren mit dunklem Stiele, das Ende des Capitulums etwas heller.

Beschrieben nach drei Weibchen, welche von Dr. Soledade in Minas zwischen Theophilo Ottoni und den Ufern des Rio Doce gefangen wurden. Die Exemplare waren alle etwas defekt.

Eine Figur soll später gegeben werden.

3. Erephopsis albitaeniata n. sp. (Fig. 4).

Gesammtlänge 12 mm., Hauptfarbe braun.

Rüssel 7 mm. lang, dunkelbraun, die Labellen schwarz oder rostrot; Palpen braun, das zweite Glied lang und fein, mit schwarzer Spitze; Antennen an den basalen Abschnitten braun und schwarzbehaart, der dritte lebhaft rost- oder ziegelrot; Grund des Gesichtes glänzend, gelblich- oder schwärzlichbraun; Ocellen deutlich; Stirne bräunlich, der Scheitel mehr schwärzlich und schwarz behaart; Augen dunkel mit hellen Haaren; Hinterkopf mit schwarzem Grunde und silbernem Ueberzuge, im obern Teile mit dunklen Haaren; Bart weiss.

Thorax oben rehbraun, mit undeutlichen heller oder dunkler braunen Striemen; Scutellum ockerbraun; Scutum am vordern Teile mit dunklen randständigen Wimperhaaren; von der Flügelwurzel bis zur Basis des Scutellums beiderseits eine randständige Binde ziemlich

amarelados e bastante compridos ; em baixo o fundo tem a côr de bolotas de carvalho secas, sendo todavia coberto com um enduto fino de côr branca e muitos pêlos da mesma côr.

Abdome : em cima os dous ou trez primeiros segmentos da côr de bolotas de carvalho, o resto enegrecido ; em baixo é pardo-amarelado. Em cima ha uma faxa mediana com fundo ocraceo claro, coberto em grande parte com pequenos pêlos brancos formando triangulos, com a baze nas marjens posteriores dos segmentos. Existem tambem franjas curtas de pêlos brancos nas marjens latero-apicais.

Azas : Baze, costa, estigma, celulas bazaes e uma tarja das nervuras transversais superiores de pardo-olivaceo, mais ou menos enfuscado ; a celula discoidal é um pouco mais clara e a parte anterior da porção apical mais escura. Primeira celula marjinal posterior e anal com pedunculo curto ; ramo anterior da nervura forqueada sem apendice distinto e sem angulo bem acuzado.

Halteres inteiramente pardo-ocraceos.

Recebi duas femeas desta especie do Sr. Zikán em Mar de Hespanha, sendo uma pegada neste lugar em 10 XII 08 e a outra no Rio Muriahé em 14 XI 08.

Duas outras foram colecionadas em S. Paulo do Muriahé (1911) e mandadas pelo Dr. Braune.

4. **Bombylomyia splendens n. sp.** (Fig. 3).

Comprimento total ca. de 15 mm. Abdome com brilho metalico.

Tromba preta, de 7 mm. de comprimento, palpos com o segundo segmento bastante curto, pardo, porém com pêlos pretos ; antenas : os dous articulos bazais pardo-ocraceos e com pêlos escuros, o terminal curto, de côr parda, mas com cilios pretos do lado de cima ; a parte conica da face preta, com alguns sulcos pouco fundos, uma meia lua acima da tromba e o resto da face sem brilho, de pardo ocraceo bastante enfuscado ; vertice enfuscado com pêlos pretos ; ocelos distintos ; olhos escuros com pubecencia fina e densa, parlanger weiser Haare, die etwas ins Gelbe spielen ; unten ist der Grund eichelbraun mit feinem weissem Belage und zahlreichen Haaren derselben Färbung.

Abdomen : oben an den ersten zwei oder drei Segmenten eichelbraun, der Rest schwärzlich ; unten gelblich braun ; oben verläuft in der Mittellinie eine sehr hell ockerbraune Längslinie, zum grössten Teile von feinen weissen Härchen bedeckt, welche Dreiecke bilden, deren Basis dem Hinterrande der Segmente entspricht ; nach der Spitze zu stehen an den Seitenrändern Fransen von kurzen weissen Haaren.

Flügel : Basis, Costa, Stigma, Basalzellen und ein Saum der oberen Queradern heller oder dunkler olivenbraun, Discoidalzelle etwas heller und der Vorderrand der Flügelspitze etwas dunkler, als der verwaschen bräunliche Flügel ; erste Hinterrands- und Analzelle mit kurzem Stiele, Vorderast der Gabelader ohne Anhang und keinen deutlichen Winkel bildend.

Halteren in toto bräunlich ockergelb.

Ich erhielt zwei Weibchen dieser Art von Herrn Zikán in Mar de Hespanha (Minas), das erste wurde daselbst (10 XII 08), das andere am Muriahé (14 XI 08) gefangen ; zwei andere stammen aus S. Paulo do Muriahé und wurden 1811 von Dr. Braune gesammelt.

4. **Bombylomyia splendens n. sp.** (Fig. 3).

Gesammtlänge ca. 15 mm. Abdomen metallisch glänzend.

Rüssel ca. 7 mm. lang, schwarz ; Palpen : das zweite Segment ziemlich kurz, braun, aber an der Oberseite schwarz bewimpert ; Antennen an den zwei untersten Abschnitten ockerfarben, mit dunklen Haaren, der letzte schwarz ; der konische Gesichtsvorsprung glänzend schwarz mit einigen seichten Furchen, ein Halbmond über dem Rüsssel und der Rest des Gesichtes matt und ziemlich dunkel ockerbraun : Scheitel bräunlich mit schwarzen Haaren ; Ocellen deutlich ; Augen dunkel, mit dichter und feiner

dacenta ; barba espessa e comprida, de côr preta, sem brilho ; occiput com fundo granulozo e preto, mas com brilho claro e pêlos escuros bastante abundantes.

Torax pardo enegrecido, sem brilho e coberto de pêlos densos, pardo-fulijinozos menos compridos no meio do escudo, onde aparecem algumas linhas lonjitudinais indistintas.

Abdome largo, curto e grosso, muito convexo em cima e em baixo, de côr metalica brilhante ; no lado dorsal, a baze é azul, a parte media verde, tornando se mais amarelo no terço apical onde ha pêlos pardo-dourados ; dos lados e no ventre uniforme de preto lustrozo.

Pernas até aos joelhos pretas e densamente cobertas de cilios da mesma côr ; o resto é ocraceo, com cilios claros muito mais curtos e finos ; a parte apical do pé é enfuscada.

Azas : baze celula costal e uma tarja das nervuras transversais superiores enfuscadas, o resto da aza enfumaçado, com o apex muito escuro e o centro mais claro ; primeira celula marjinal posterior terminando bastante, a anal pouco antes da marjem ; ramo anterior da nervura forqueada sem apendice, mas com o angulo acuzado e marcado por uma pequena mancha escura.

Apanhei em 2—10—08 duas femeas desta especie na fazenda Ouro Fino, do Sr. Dr. Almeida Magalhães em Benjamim Constant perto do Parahyba : consta-me que mais tarde foi apanhado outro exemplar, mas perdeu-se. A especie chama a atenção pela côr brilhante e semelhança que oferece com certos himenopteros. Pode entrar no meu genero *Bombylopsis* cujo nome, por preocupado, será mudado em *Bombylomyia*.

5. Laphriomyia mirabilis n. g., n. sp.

O conhecimento d'esta forma exquizita devo-o ao Sr. Dr. Hermann, professor na universidade de Erlangen e conhecido

bräunlicher Pubescenz ; der lange und dichte Bart mattschwarz ; Hinterkopf mit körnigem Grunde von schwärzlicher Farbe, mit hellem Glanze, die Haare dunkel.

Thorax matt schwarzbraun, aber bedeckt von russbraunen Haaren, die in der Mitte des Scutums kürzer sind ; letzteres zeigt einige undeutliche Längslinien.

Abdomen breit, kurz und dick, oben und unten stark konvex, von glänzender Metallfarbe ; diese ist auf der Oberseite an der Basis blau, in der Mitte grün und im letzten Drittel mehr gelb, mit goldbraunen Haaren ; auf der Seite und unten glänzend schwarz.

Beine bis zu den Knien schwarz und dicht bewimpert, der Rest ockergelb, mit viel feineren und kürzeren, hellen Wimperhaaren, der Apicalteil des Fusses bräunlich.

Flügel : Basis, Costalzelle und der Saum der oberen Queradern gebräunt ; der Rest des Flügels rauchgrau, mit viel dunklerem Spitzenteile und hellerem Zentrum ; erste Hinterrandszelle ziemlich, Analzelle nur wenig vor dem Rande geschlossen ; vorderer Ast der Gabelader ohne Anhang, aber mit deutlichem, durch einen dunklen Fleck bezeichnetem Winkel.

Von dieser Art fing ich zwei Exemplare auf der Fazenda Ouro Fino, die in Minas nahe am Parahyba bei der Station Benjamin Constant gelegen ist und Dr. Almeida Magalhães gehört. Es war dies am 2ten Oktober 1908. Später wurde dort noch ein drittes Exemplar gefangen, ging aber verloren, bevor es in meinen Besitz gelangte. Die Art ist durch ihre glänzenden Farben und ihre grosse Aehnlichkeit mit gewissen Hymenopteren ausgezeichnet ; sie lässt sich am natürlichsten dem früheren Genus *Bombylopsis* einreihen, dessen Namen ich jedoch als präoccupiert in *Bombylomyia* ändere.

5. Laphriomyia mirabilis n. g., n. sp.

Ich verdanke die Kenntnis dieser auffälligen und abweichenden Form Herrn Prof. Hermann in Erlangen, der mir das

dipterologo, que obsequiozamente cedeu o unico exemplar conhecido. Não pode ser colocado em nenhum dos generos conhecidos o que me levou a estabelecer o novo genero LAPHRIOPSIS. Dou em seguida os caracteres d'este, tanto, quanto fôr possivel em prezença de uma só especie.

LAPHRIOMYIA N. GEN.

Caracteres gerais como em EREPHOPSIS e BOMBYLOMYIA, mas as pernas posteriores muito alongadas; as tibias deste e os femures de todos os pares densamente pilosos, em forma de vassourinha de garrafa, cauzando isso bastante semelhança com certos himenopteros e com dipteros predatorios. Na unica especie conhecida o corpo é lustrozo e as azas variegadas, o que talvez reprezente caracteres adicionais.

L. MIRABILIS N. SP.

(V. Fig. 5 e o desenho mostrando o perfil em tamanho um pouco aumentado, no fim da descrição).

Comprimento geral ca. de 21 mm., da tromba 9—10 mm. e da aza 15 mm.; côr geral preta, azas variegadas.

Tromba, antenas e palpos pretos, estes com o segundo segmento comprido e fino. Vertice pardo, no meio preto e um pouco lustrozo; ocelos distintos; olhos no exemplar seco chocolate, com pêlos pretos; cara inferior de preto lustrozo, lijeiramente tirando sobre o vermelho; barba de preto fulijinozo, occiput acinzentado.

Torax no meio glabro (talvez por terem caido pêlos), de pardo-enegrecido lustrozo; escutelo de côr chocolate avermelhado; escudo em cada marjem lateral com um feixe de pêlos brancos na altura da baze da aza; pelo resto as marjens são cobertas de pêlos de preto fulijinozo; pleuras e sterno quazi sem brilho, preto-fulijinozos com pêlos da mesma côr.

Abdome comprido, em cima muito convexo, de côr preta lustroza e com pêlos fulijinozos escassos.

Pernas na sua totalidade escuras, com fundo chocolate e pêlos pretos, só os pulvillos ferrujinozos. Todos os femures e as

einzige bisher bekannte Exemplar in freundlichster Weise überliess. Es lässt sich in keiner der bekannten Gattungen unterbringen, was mich zur Aufstellung des neuen Genus LAPHRIOPSIS veranlasst hat. Soweit dies auf Grund einer Art möglich ist, habe ich dafür eine Diagnose aufzustellen gesucht.

LAPHRIOMYIA N. GEN.

Charaktere, wie bei *Erephopsis* und *Bombylomyia*, aber die Hinterbeine sehr lang und deren Schienen, ebenso wie sämmtliche Schenkel, stark bürstenförmig behaart, wodurch eine grosse Aehnlichkeit mit gewissen Hymenopteren und Raubfliegen entsteht. Bei der einzigen bekannten Art ist der Rumpf glänzend und die Flügel mehrfarbig, was vielleicht zur Ergänzung der Gattungskennzeichen dienen kann.

L. MIRABILIS N. SP.

(S. Fig. 5 und die nachstehende, etwas vergrösserte, Profilzeichnung).

Länge ca. 21 mm., Rüssel 9—10 mm., Flügellänge 15 mm.; Allgemeinfärbung schwarz, Flügel bunt.

Rüssel schwarz; Palpen ebenso, zweites Glied lang und dünn; Antennen schwarz; Scheitel braun, in der Mitte schwarz und etwas glänzend; Ocellen deutlich; Augen am trocknen Exemplare braun, schwarzbehaart; Untergesicht glänzend schwarz, mit leicht rötlicher Beimischung; Bart russschwarz; Hinterkopf grau.

Thorax in der Mitte glänzend schwarzbraun (abgerieben?); Schildchen rötlich-chokoladefarben; in der Höhe der Flügelwurzel am Seitenrand des Schildes ein weisser Haarpinsel, sonst ist der Rand russschwarz behaart; Pleuren und Sternum kaum glänzend, russschwarz mit ebensolchen Haaren.

Hinterleib lang, oben stark konvex, glänzend schwarz, mit spärlicher russschwarzer Behaarung.

Beine in toto dunkel, chokoladefarben, die Behaarung aber ganz schwarz;

tibias posteriores densamente cobertos com pêlos fulijinozos ; as outras tibias com poucos pêlos e os tarsos glabros, sendo a côr um tanto mais clara e avermelhada.

Azas : A baze pardo-ferrujinoza, o resto amarelo diaphano, enfuscado na metade apical ; a celula axilar enfuscada, mas com o centro mais claro, uma parte da celula costal e da primeira bazal de côr amarela mais opaca, as nervuras destacando-se pela sua côr ferrujinoza ; primeiro ramo da nervura bifurcada com angulo, mas somente do lado esquerdo com apendice curto ; primeira celula marjinal posterior e a anal brevemente pecioladas.

O unico exemplar conhecido procede do Estado de Espirito Santo.

nur die Pulvillen roströtlich. Sämmtliche Schenkel ziemlich, hinterste Tibien sehr stark, russschwarz behaart ; vordere Tibien kaum behaart, die etwas helleren und mehr rötlichen Tarsen kahl.

Flügel : Basis rotbraun. Rest gelblich durchscheinend, in der Spitzenhälfte braun getrübt, Axillarzelle ebenso, aber in der Mitte mit hellerem Fenster ; ein Stück der Costal- und ersten Basalzelle opak hellgelb ; Adern auffallend rostfarben, erster Ast der Gabelader winklig gebogen, nur links mit ganz kurzem Anhang, erste Hinterrands- und Analzelle sehr kurz gestielt.

Das einzige bekannte Weibchen stammt aus Espirito Santo.

6. Esenbeckia neglecta n. sp. (Fig. 8).

Comprimento total do corpo (sem a proboscida) cerca de 17—18 mm.

Proboscida do tamanha da altura da cabeça, de côr preta ; palpos pardo-avermelhados, de forma tipica, mas bastante largos, com pêlos pretos um tanto comprí dos ; antenas de forma tipica, de côr ferrujinea, com pêlos pretos nas articulações bazaes e apice do terceiro articulo enfuscado ; face preta, com calozidade brilhante abaixo das antenas ; barba e marjens oculares com pêlos esbranquiçados ; olhos escuros, glabros ; fronte e vertice ocraceos, com calozidade claviforme de côr castanho-clara.

6. Esenbeckia neglecta n. sp. (Fig. 8).

Gesammtlänge des Körpers ohne Rüssel ca. 17—18 mm.

Rüssel schwarz, die Länge der Höhe des Kopfes entsprechend : Palpen von typischer Form, aber ziemlich breit, rötlichbraun, mit ziemlich langen schwarzen Haaren, Antennen typisch geformt, rostgelb, die basalen Segmente mit schwarzen Haaren, das dritte an der Spitze bräunlich. Gesicht schwarz, unterhalb der Antennen eine glänzende Schwiele bildend, Bart und Augenhöhlenränder mit weisslichen Haaren, Augen dunkel, unbehaart ; Stirne und Scheitel ockergelb, letzterer mit hellbrauner keulenförmiger Schwiele.

Torax em cima com estrias longitudinais pretos e pêlos dourados sobre fundo pardo-amarelado; em baixo, o fundo é preto e coberto de pêlos brancos, formando uma faxa branca abaixo da raiz das azas.

Abdome geralmente de côr castanho-avermelhada, mais enegrecida nas partes bazais dos tres primeiros segmentos. A metade apical do primeiro e segundo segmento em cima e a maior parte dos tres primeiros segmentos em baixo transparentes e de côr amarela cornea; as incizuras, principalmente as do terceiro e quarto segmentos, com pêlos brancos finos e curtos; mais para traz e para dentro tornam-se dourados e finalmente enegrecidos; a face ventral do abdome de um castanho mais escuro chegando a ser negro nos segmentos anteriores.

Pernas com os femures pela maior parte enegrecidos; as tibias e os tarsos dos pares anteriores pardo-ocraceos, os do terceiro par de um pardo ferrujinozo escuro.

Azas: baze e costa pardo-avermelhadas, uma faxa bastante larga ocupando o apice e a marjem posterior, de pardo enegrecido, tornando-se mais claro na celula axilar; fica assim limitada uma faxa amarela, muito clara na marjem posterior, mas tornando-se mais carregada a medida que se aproxima da marjem costal; nervuras em grande parte pardo-amareladas; a celula costal castanha com um tom amarelado ou avermelhado; primeiro ramo da celula forqueada com apendice bastante comprido, primeira celula marjinal posterior fechada bastante antes da marjem, a anal mais perto desta, esquamula pardo-olivacea; halteres castanho-escuros com a parte terminal mais clara.

A descrição foi tirada de um numero maior de femeas, capturadas pelo Dr. Soledade em Minas entre Theophilo Ottoni e as marjens do Rio Doce. Não correspondem a nenhuma das descrições de especies deste genero que achei na literatura.

Thorax oben mit schwarzen Längsstriemen und goldenen Haaren auf gelblich braunem Grunde; unten ist der Grund schwarz und mit weissen Haaren besetzt, welche unter den Flügelwurzeln eine weisse Binde bilden.

Abdomen im allgemeinen braunröttlich, jedoch in der basalen Partie der drei ersten Segmente schwärzer: oben sind die Apicalhälften der zwei ersten Ringe, unten der grössere Teil der drei ersten Segmente durchsichtig und von gelber Hornfarbe; die Einschnitte, besonders die des dritten und vierten Abschnittes mit weissen Härchen, nach hinten und innen zu werden sie goldfarben und schliesslich schwärzlich: die Unterseite des Abdomens ist dunkler, an den vorderen Ringen sogar schwarz.

Beine mit grösstenteils schwarzen Schenkeln, die Tibien und Tarsen der vorderen Paare sind bräunlich ockergelb, die des driten Paares dunkel rostbraun.

Flügel: Basis und Costa röttlich braun, Spitze und Hinterrand mit einer ziemlich breiten, schwarzbraunen Binde, die in der Axillarzelle heller wird: es wird durch dieselbe eine Zone von gelber Farbe abgegrenzt, welche am Hinterrande sehr hell ist und in dem Masse satter wird, als sie sich dem Costalrande nähert; Adern grossenteils gelblichbraun, die Costalzelle braun mit gelblichem oder rötlichem Ton; erster Ast der Gabelader mit ziemlich langem Anhang; erste Hinterrandszelle ziemlich weit vom Rande, Analzelle demselben näher geschlossen; Schüppchen olivenbraun; Halteren dunkelbraun mit hellerem Endteile.

Die Beschreibung wurde nach einer grösseren Anzahl von Weibchen gemacht, welche von Dr. Soledade in Minas zwischen Theophilo Ottoni und den Ufern des Rio Doce gefangen wurden. Sie stimmen mit keiner der von mir in der Litteratur aufgefundenen Beschreibungen hierhergehöriger Arten.

7. Esenbeckia mattogrossensis n. sp. (Fig. 7).

Comprimento total ca. de 18 mm.; corpo preto, azas amarelas com faxa terminal preta.

Proboscide, palpos e antenas pretos ou pelo menos enegrecidos; face enegrecida, abaixo das antenas com feixes de pêlos com brilho niveo; fronte coberta de pó pardo-dourado sendo mais larga em frente e estreitando-se gradualmente por traz; o centro é ocupado por uma calozidade, em forma de clava, de preto luzidio; ocelos distintos; olhos pretos quando secos; occiput enegrecido com brilho cinzento; barba bastante curta estendendo-se ás marjens orbitais externas, compostas de pêlos cambiando do cinzento para o branco niveo.

Torax: escudo e escutelo côr de pixe, o primeiro nas marjens laterais um pouco avermelhado e com pêlos dourados muito curtos. Em redor da raiz das azas ha alguns feixes de pêlos com brilho niveo, como tambem em continuação da barba; pelo resto em baixo o fundo é enegrecido com fraco brilho cinzento.

Abdome preto de pixe, mais ou menos lustrozo, a marjem posterior dos segmentos com cilios finos e curtos, de brilho branco; o primeiro segmento na sua metade apical de côr cornea avermelhada; o mesmo se nota em baixo na marjem apical dos outros segmentos.

As pernas são inteiramente de côr preta, um tanto avermelhada.

Azas com tarja preta, bastante larga no apice, que acompanha a marjem posterior tornando-se gradualmente mais estreita e terminando na nervura axilar; o centro das celulas é mais ou menos extensamente fenestrado; o resto da aza de amarelo de mel, mais ou menos diluido e transparente, mas sempre intenso na celula costal e nas nervuras da parte amarela, onde tira sobre o pseudo-ferrujinozo, na parte preta as nervuras são enegrecidas. No primeiro ramo

7. Esenbeckia mattogrossensis n sp. (Fig. 7).

Totallänge ca. 18 mm., Körper schwarz, Flügel gelb, mit endständiger schwarzer Binde.

Rüssel, Palpen und Antennen schwarz oder schwärzlich, Gesicht schwarz, mit zwei weissglänzenden Haarbüscheln unterhalb der Antennen; Stirne braungolden bestäubt, vorne breiter, nach hinten zu allmälich schmäler werdend, in der Mitte eine glänzendschwarze, keulenförmige Schwiele; Ocellen deutlich; Augen nach dem Trocknen schwarz, Hinterkopf schwarz mit grauem Schimmer: der ziemlich kurze Bart erstreckt sich bis zu den äusseren Augenhöhlenrändern und besteht aus Haaren, die von Grau in Schneeweiss schillern.

Thorax: Scutum und Scutellum pechfarben, ersteres an den Seitenrändern etwas rötlich, mit kurzen goldenen Haaren besetzt. Um die Flügelwurzel stehen einige Haarbüschel von schneeweissem Schimmer, wie ihn auch die Fortsetzung des Bartes aufweist, im Uebrigen ist der Grund unten schwärzlich, mit schwachem grauem Glanze.

Abdomen mehr oder weniger glänzend pechschwarz, der Hinterrand der Segmente mit kurzen und feinen Zilien von weissem Glanze; das erste Segment in seiner Spitzenhälfte von rötlicher Hornfarbe, wie sie unten auch der Apikalrand der übrigen Segmente aufweist.

Die Beine in ganzer Ausdehnung schwarz mit leichter Beimischung von Rot.

Flügel an der Spitze mit ziemlich breiter schwarzer Binde, die auch, allmählich schmäler werdend, dem Hinterrande folgt und an der Analader aufhört; die Mitte der Zellen ist in wechselnder Ausdehnung gefenstert; Rest des Flügels von mehr oder weniger verwaschenem und durchsichtigem Honiggelb, welches aber in der Costalzelle und an den Adern der gelben Partien intensiver ist und ins Rostbraune spielt; an den dunklen Stellen sind die Adern schwärzlich. Der erste Ast der Gabelzelle weist einen deutlichen

da nervura forqueada ha um apendice e um angulo bem acentuado; a primeira celula da marjem posterior e a anal são fechadas um pouco antes da marjem. Escamula côr de mel, com tarja preta estreita. Halteres pardas, mais claras na parte apical.

Descrita de tres femeas apanhadas na rejião do Rio Guaporé, na fronteira da Bolivia, pelo farmaceutico Cesar Diogo.

8. **Esenbeckia inframaculata n. sp.** (Fig. 6).

Comprimento pouco menos de 17 mm.

Tromba preta; palpos pardo-ferrujinozos; antenas com os articulos bazais ferrujineos com pêlos escuros, o terceiro ferrujinozo-claro com a ponta extrema preta. Face cinzenta com os pêlos e a barba mais claros, fronte enegrecida logo para traz das antenas, depois com pó ocraceo, como tambem o espaço interocular; este é mais estreito adiante do tuberculo ocelar pouco vizivel e contem uma calozidade linear larga e saliente de preto luzidio; ocelos pardo-avermelhados; occiput com pó ocraceo.

Torax cinzento-pardo; em cima com pó e pêlos ocraceos e com o fundo aparecendo mais para traz em forma de tres manchas alongadas; lateralmente e em baixo por diante dos halteres ha feixes de pêlos esbranquiçados.

Abdome largo (mais de 7 mm.), nos tres primeiros aneis transparente, de côr amarela cornea mate; mais para traz, mais escuro, de côr pardo-avermelhada; no quarto segmento ha uma larga cinta bazal com alargamento triangular dos dous lados, onde o fundo parece como carbonizado, o que se dá tambem nas cintas e manchas descritas mais abaixo; no terceiro anel ha uma cinta semelhante, limitada aos terços laterais, e no quarto outra, ocupando apenas os quartos exteriores, ambas sem alargamento lateral; na face ventral ha dos dous lados umas manchas arredondadas ou de forma ovalar lijeiramente obliqua, de côr preta, no segundo segmento dos lados

Anhang und Winkel auf; die erste Hinterrands- und die Analzelle sind etwas vor dem Rande geschlossen. Schüppchen honigfarben mit schmalem schwarzem Saume. — Halteren braun, im Endteile heller.

Beschrieben nach drei Weibchen, welche in der Gegend des Rio Guaporé in Matto Grosso, nahe der bolivianischen Grenze, von Apotheker Cesar Diogo gesammelt wurden.

8. **Esenbeckia inframaculata n. sp.** (Fig. 6).

Länge nahezu 17 mm.

Rüssel schwarz; Palpen bräunlich rostrot; Antennen an den zwei ersten Gliedern rostgelb, mit dunklen Haaren; das dritte hell rostrot, ganz an der Spitze schwarz. Gesicht aschgrau, die Behaarung und der Bart heller; Stirn dicht hinter den Fühlern schwärzlich, weiterhin ockergelb bestäubt, wie auch der Raum zwischen den Augen; dieser ist vor dem wenig auffallenden Ocellenhöcker am engsten und umschliesst eine erhabene, breit leistenförmige, glänzend schwarze Schwiele; Ocellen braunrot; Hinterkopf ockergelb bestäubt.

Thorax graubraun, oben okergelb behaart und bestäubt, mit nach hinten, in Form dreier länglicher Flecke, durchscheinendem Grunde; seitwärts und nach unten vor den Halteren weissliche Haarbüschel.

Abdomen breit (über 7 mm.), an den drei ersten Ringen matt horngelb und durchscheinend, nach hinten zu dunkler, braunrötlich; am vierten Segment eine breite basale Querbinde, die an den Seiten dreieckig erweitert ist und wie verkohlt aussieht, was auch bei den noch zu erwähnenden Binden und Flecken der Fall ist; am dritten Ringe eine ähnliche Binde auf die seitlichen Drittel, am vierten eine ebensolche auf die äusseren Viertel beschränkt und beide seitlich nicht erweitert; auf der Ventralseite am dritten, vierten und fünften Segmente seitwärts rundliche oder leicht schräg ovale schwarze

outra mancha, porem completamente redonda e apenas com a metade do diametro; na linha mediana ha no primeiro segmento uma estria lonjitudinal irregular, no segundo e terceiro um triangulo com apice virado para traz, no quarto outro semelhante, mas virado em sentido oposto e no quinto uma linha transversal, correspondendo á baze de outro triangulo igual.

Pernas ferrujineas, ligeiramente pardacentas; os tarsos do primeiro par e o terceiro par com excepção da baze mais escuros, pardacentos; as coxas anteriores enegrecidas, porem com pêlos alvacentos.

Azas muito enfuscadas, com prolongamento tipico no primeiro ramo da nervura enforquilhada; celula anal e primeira da marjem posterior fechadas antes da marjem; baze e celula costal amarelas de mel; o estigma, as nervuras maiores transversais medias de pardo avermalhado, as outras de côr mais enegrecida; esquamulas enegrecidas; balancins pardos tornando-se mais claros em direção da extremidade.

Descrito de uma femea apanhada pelos fins de Março em Valença (Estado do Rio de Janeiro). Outros exemplares foram apanhados em Benjamin Constant e nas serras de Bocaina e de Petropolis. Como a maioria das *Esenbeckias* é francamente crepuscular.

9. Chrysops omissus n. sp. (Fig. 9).

Comprimento do corpo (sem as antenas) 8,5 mm., o da aza pouco mais de 7, largura maior 3 mm.

Tromba curta e preta, de 2 mm. de comprimento; palpos pardo-ocraceos com pêlos castanhos; calozidades faciais côr de mel; antenas castanho-claras, com pêlos pretos nos dous primeiros articulos, o bazal um pouco dilatado, o terceiro apenas com a primeira divizão bastante clara, sendo o resto enegrecido; olhos como na maioria das outras especies; calozidade frontal castanho-clara, tornando-se preta nas marjens laterais; vertice castanho-claro na marjem, quazi preto no centro, ocelos distintos de côr castanha-clara.

Flecken, am zweiten ein ebensolcher, aber nur halb so gross und ganz rund; in der Mittellinie am ersten ein unregelmässiger Längsstrich, am zweiten und dritten mit der Spitze nach hinten gewendete Dreiecke; am vierten ein ebensolches, aber umgekehrt und am fünften ein der Basis eines solchen entsprechender Querstrich.

Beine leicht bräunlich rostgelb; drittes Paar — mit Ausnahme der Basis — und vom ersten die Tarsen dunkler, mehr braun. Die vordersten Hüften schwärzlich, aber weisslich behaart.

Flügel stark gebräunt, mit typischem Fortsatze am ersten Ast der Gabelader; erste Hinterrands- und Analzelle vor dem Rande geschlossen; Basis und Costalzelle honiggelb, das Stigma, die grösseren Nerven und die mittleren Queradern rötlich-, die übrigen schwärzlich braun; Schüppchen schwärzlich; Halteren braun, gegen das Ende zu heller werdend.

Bschreibung nach einem Weibchen, das gegen Ende März im Staate Rio de Janeiro (Valencia) gefangen wurde. Andere Exemplare wurden in Benjamim Constant und in der Serra da Bocaina und in Caxambú de Cima bei Petropolis gefangen. Wie die meisten *Esenbeckias* fliegt sie in der Dämmerung.

9. Chrysops omissus n. sp. (Fig. 9).

Gesammtlänge des Körpers (ohne Antennen) 8,5 mm., Breite ca. 3 mm., Flügellänge etwas mehr als 7 mm.

Rüssel schwarz, 2 mm. lang: Palpen ockerbraun mit braunen Haaren: Gesichtsschwiele honiggelb: Antennen hellbraun, mit hellen Haaren an den beiden ersten Segmenten, das basale etwas angeschwollen: das dritte ist nur am ersten Teile hell, sonst schwärzlich: Augen, wie bei der Mehrzahl der hiesigen Arten gezeichnet; Stirnschwiele hell kastanienbraun, an den Rändern ins Schwarze übergehend: Scheitel am Rande hellbraun, in der Mitte fast schwarz; Ocellen deutlich hellbraun.

Torax, em cima com fundo quazi preto no meio, dos lados castanho-claro, em baixo castanho-escuro, com pêlos castanhos de brilho dourado. Escutelo castanho muito claro, um pouco avermelhado.

Abdome em cima geralmente de pardo ocraceo, no meio com uma faxa negra como pixe, um pouco alargada na parte apical dos segmentos e contendo no meio uma estria pardo-ocracea pouco distinta. Ha indicação de linhas pretas laterais em ziguezague, interrompidas na junção dos segmentos. Na parte posterior a marjem destes torna-se escura e do quinto segmento para traz prevalece o preto, interrompido apenas por algumas pequenas manchas pardo-ocraceas; em baixo ha uma estria preta mediana e duas laterais sobre fundo pardo-ocraceo claro; estas ultimas confluem na marjem posterior do abdome.

Pernas quazi uniformemente de côr castanha-clara, apenas um pouco enegrecida em direção ao apice.

Azas bastante claras, com a costa largamente enfuscada até ao apice; a faxa escura muito curta e obliqua, com as marjens recortadas; o resto da aza lijeiramente acinzentado, com excepção de uma tarja hialina um tanto irregular que acompanha a faxa escura. A primeira celula posterior é largamente aberta, a quarta um pouco estreitada; a celula anal aberta, porem muito estreitada.

O exemplar que serviu para a descrição foi apanhado por mim nas marjens do rio Tieté, logo acima do salto de Avanhandava em 24 IV 08.

10. **Chrysops nigricorpus n. sp.** (Fig. 10).

Comprimento do corpo, sem as antenas, 7,5 — 8 mm., largura maior cerca de 3 mm.

Tromba e palpos pretos; antenas côr de mel no articulo bazal, os outros pretos com pêlos da mesma côr; face na totalidade côr de mel; calozidade frontal da mesma côr, o resto do vertice preto brilhante; ocelos castanhos; olhos como na maioria das especies; occiput negro.

Thorax: Scutum in der Mitte fast schwarz, nach aussen hellbraun; Unterseite dunkelbraun mit braunen, aber goldglänzenden Haaren. Schildchen von hellem, etwas rötlichem Braun.

Abdomen: Oben ist die allgemeine Färbung ockerbraun, mit pechschwarzer medianer Längsbinde, welche im Apikalteil der einzelnen Ringe etwas verbreitert ist und in der Mitte eine, etwas undeutliche, ockerbraune Linie enthält. Auch findet sich eine Andeutung von seitlichen schwarzen Zickzacklinien, welche an der Verbindung der Ringe unterbrochen sind. Im hinteren Teile des Dorsum abdominis werden die Ränder der Segmente dunkel und vom fünften Ringe an herrscht die schwarze Farbe vor und wird nur durch einige kleine oskerbraune Flecke unterbrochen. Unten steht auf bräunlich ockerfarbenem Grunde ein medianer und zwei seitliche Längsstreifen, welche am Hinterrande des Abdomens verschmelzen.

Beine fast durchwegs hell kastanienbraun, nur nach der Spitze zu etwas schwärzlich.

Flügel ziemlich hell, der Vorderrand bis zur Spitze breit dunkel gesäumt, die dunkle Binde sehr kurz und schräg, mit ausgeschnittenen Rändern, um dieselben ein etwas unregelmässiger hyaliner Saum, der Rest des Flügels leicht rauchgrau. Erste Hinterrandszelle weit offen, vierte etwas verengert, die Analzelle offen, aber stark verengert.

10. **Chrysops nigricorpus n. sp.** (Fig. 10).

Körper schwarz, ohne die Antennen 7,5—8 mm. lang, Breite ca. 3 mm.

Rüssel und Palpen schwarz, Basalglied der Antennen honiggelb, die andern schwarz und schwarz behaart. Das ganze Gesicht honiggelb, Stirnschwiele ebenso, der Rest des Scheitels glänzendschwarz, Ocellen braun, Zeichnung der Augen vom gewöhnlichen Typus. Hinterkopf schwarz.

Torax preto de ardozia com trez linhas lonjitudinais de preto brilhante.

Pernas na sua totalidade pretas com unica excepção dos empodios que são amarelados.

Azas dezenhadas como no *chrysops laetus*, apenas a costa um pouco mais largamente enegrecida ; halteres negros, capitulo mais claro, de cor castanha ; escamula da aza castanha, com a marjem mais escura.

Desta especie foram apanhadas vinte femeas em pleno campo entre Miguel Calmon e Salto de Avanhandava, no noroeste de São Paulo, em 28 IV 08. Vizitei o mesmo logar em Janeiro de 1909 sem encontrar outro exemplar.

11. Chrysops parvifascia n. sp. (Fig. 11).

Comprimento do corpo 7 a 8 mm.

Tromba pardo-escura ; palpos pretos ; antenas com articulo bazal ocraceo, mais escuro no apice, o resto enegrecido ; calozidade facial extensa, côr de mel, fronte polvilhada de branco com calozidade frontal mais larga do que comprida, de côr ocracea enegrecida ; ocelos situados sobre outra calozidade de forma e côr semelhante. Olhos seguindo o tipo mais comum.

Torax preto, em cima um pouco lustrozo, com duas linhas cinzentas, lonjitudinais e submedianas.

Abdome preto, com brilho esbranquiçado e pêlos microscopicos, escuros, mas com brilho prateado.

Pernas, pretas na quazi totalidade, apenas os primeiros tarsos de um ferrujineo pardacento palido.

Azas quazi hialinas, com excepção da baze da faxa transversal e do bordo costal entre as duas que têm uma cor castanha mais ou menos enegrecida ; a faxa é curta e estreita, subtriangular, de contornos sim-

Thorax schieferschwarz, auf dem Scutum drei glänzend schwarze Längsbinden.

Abdomen oben schieferschwarz, unten von glänzend schwarzer Färbung.

Beine durchwegs schwarz, nur die gelblichen Empodien ausgenommen.

Flügel : Die Zeichnung, wie diejenige bei *Chysops laetus*, nur die Costa etwas breiter schwarz gesäumt : Halteren schwarz, das Kapitulum etwas heller, braun. Schüppchen braun mit dunklerem Rande.

Von dieser Art wurden 20 Weibchen am 28ten April 1908 auf offenem Felde in den Campos zwischen Miguel Calmão und Salto d'Avanhandava, in Nordwesten von São Paulo gefangen. Bei einem späteren Besuche konnte an derselben Stelle auch nicht ein Exemplar aufgefunden werden.

11. Chrysops parvifascia n. sp. (Fig. 11).

Körperlänge 7, 8 mm.

Rüssel dunkelbraun : Palpen schwarz : Antennen mit ockergelbem, am Ende dunklem Basalgliede, die beiden oberen schwärzlich : Gesichtsschwiele gross, honiggelb, Stirne weissbestäubt mit mehr breiter, als langer, schwärzlich ockergelber Schwiele, die Ocellen auf einer anderen in Form und Farbe ähnlichen Schwiele, Augenzeichnung vom gewöhnlichsten Typus.

Thorax schwarz, oben etwas glänzend, mit zwei grauen, submedianen Längslinien.

Abdomen schwarz, mit weisslichem Schimmer und mikroskopischen Härchen, von dunkler Farbe und weissen Glanze.

Beine fast durchwegs schwarz, nur die ersten Tarsen von blass rostbrauner Färbung.

Flügel fast hyalin, ausgenommen an Basis und Querbinde und dem zwischen beiden liegenden Costalrande, welche mehr oder weniger schwärzlich braun sind ; die Binde ist kurz und schmal, subtriangulär, mit einfachem Umrisse und erreicht den

ples e não atinge a marjem posterior na metade da terceira celula marjinal posterior.

Esta especie bem caracterizada foi descrita de duas femeas apanhadas entre outras especies de *chrysops* num campo perto do PORTO DE FAYA, situado na marjem do PARANÁ pouco acima da barra do TIETÉ, em territorio de MATTO GROSSO.

12. Chrysops bulbicornis n. sp. (Fig. 12).

Comprimento total pouco mais de 8 mm.

Olhos como na maioria das especies indijenas; tromba preta; uma coloração escura encontra-se tambem no articulo bazal das antenas, que é muito grosso e fuziforme, e no articulo terminal (sendo todavia a baze ocracea), como tambem no tuberculo ocelifero; pelo resto toda a cabeça tem a côr de mel; as calozidades da face e do vertice são bastante salientes.

Torax enegrecido na sua totalidade; o escudo com estrias lonjitudinais um tanto irregulares amarelo-acinzentadas sobre fundo pardo (confere a estampa); escutelo pardo.

Abdome na baze de amarelo palido tornando-se ocraceo mais para traz, em cima com quatro estrias lonjitudinais com algumas anastamoses nacendo as submedianas na marjem posterior do primeiro anel e as laterais na parte terminal do segundo; entre elles aparecem tres fileiras de manchas ocraceas; em baixo existe uma estria preta mediana constituida pela fuzão de manchas que na parte posterior conflue com a côr escura das marjens laterais.

Azas lijeiramente acinzentadas, a costa com tarja parda bastante larga sobrepassando o apice; a faxa transversal bastante larga, um pouco recortada e tarjada de branco está na situação de costume. Halteres pardos, côr de bolotas.

Pernas: as coxas do primeiro par e os femures ferrujineos, apenas com as extremidades escuras, as tibias pardas, os pés ocraceos na baze e enegrecidos na extremidade.

Hinterrand nicht, sondern hört in der Mitte der dritten Hinterrandszelle auf.

Die gut charakterisierte Art wurde nach zwei Weibchen beschrieben, welche zwischen anderen *Chrysops*arten auf einem CAMPO bei PORTO DA FAYA gefangen wurden. Der Ort liegt in MATTO GROSSO am PARANÁ etwas oberhalb und auf der anderen Seite der Einmündung des TIÉTÉ.

12. Chrysops bulbicornis n. sp. (Fig. 12).

Gesammtlänge wenig über 8 mm.

Augen, wie bei der Mehrzahl der einheimischen Arten; Rüssel schwarz; dunkel sind ausserdem das spindelförmig angeschwollene Besalglied und das Endglied der Antennen, von der ockergelben Basis desselben abgesehen, ferner der Ocellenhöcker, sonst ist der ganze Kopf honiggelb; Gesichts- und Scheitelschwiele stark hervortretend.

Thorax im Ganzen schwärzlich; das Scutum zeigt auf braunem Grunde etwas unregelmässige graugelbe Striemen (S. Abbildung); das Scutellum ist braun.

Abdomen an der Basis blass-, hinten mehr ockergelb, oben mit vier, stellenweise anastomisierenden, schwärzlichen Striemen, die submedianen am Hinterrande des ersten, die seitlichen im Endteile des zweiten Ringes beginnend; es entstehen so drei Reihen ockergelber Flecken; unten findet sich median eine breite Strieme aus konfluierenden Flecken, die nach hinten mit den dunklen Seitenrändern verschmelzen.

Flügel sehr leicht grau, Costa bis über die Spitze hinaus breit braun gesäumt; die breite Querbinde an gewöhnlicher Stelle, etwas zackig und weiss gesäumt; Geäder dem gewöhnlichen Typus entsprechend; Halteren eichelbraun.

Beine: Vordere Coxae und alle Schenkel bis auf dunkle Enden rotgelb, die Schienen braun, Füsse an der Basis gelblich-, an den Enden schwärzlich braun.

Desta especie só conheço uma femea apanhada pelo Dr. Ruy Ladisláu no noroeste de São Paulo ou na zona vizinha de Matto Grosso.

13. Erephopsis florisuga.

Junto com a *E. albitaeniata* recebi do mesmo Sr. Zikán um macho de motuca que julgo pertencer a nova especie de *Erephopsis*; embora não seja muito bem conservado creio que a descrição seguinte permitirá reconhecer tambem a femea.

Comprimento ca. de 12 mm. Côres principaes pardo e ocraceo.

Tromba do comprimento do abdome, enegrecida; palpos pardo-ocraceos com pêlos pretos, em parte muito compridos, o articulo terminal erecto e dilatado na porção terminal, mas lateralmente comprimido; antenas pardacentas, o articulo terminal ferrujinozo. Processo facial saliente e lustrozo, em cima castanho quazi preto, em baixo com a côr e a transparencia dos chifres de boi; resto da face côr de bolotas, com barba da mesma côr; os olhos no exemplar seco brilhantes, quazi pretos, mas com pubecencia amarelenta fina e curta; occiput muito excavado e coberto de pó amarelo.

Todo o torax pardo de bolotas com pêlos escuros, finos e escassos, tornando-se mais densos e longos na extremidade posterior do esterno.

Abdomen de côr ocracea. um pouco transparente, para traz mais enegrecido.

Pernas na parte superior pardas como o torax e na parte abaixo dos joelhos ocraceas como o abdome, os pés lijeiramente enfuscados e os pêlos poucos densos de côr preta.

Azas de pardo de sepia muito diluido; costa amarela; as nervuras mais grossas côr de couro amarelo ou esverdeados; ramo anterior da nervura forquilhada sem apendice e sem angulo distinto. A celula anal e a primeira marjinal posterior fechadas.

Das allein bekannte Weibchen dieser neuen Art stammt aus dem Nordwesten von São Paulo oder dem angrezenden Teile von Matto Grosso und wurde von Dr. Ruy Ladisláu gesammelt.

13. Erephopsis florisuga.

Zugleich mit der *Erepropsis albitaemiata* erhielt ich von Herrn Zikán noch ein Männchen, welches meines Erachtens einer neuen Erephopsisart zugehört; es ist zwar nicht sehr gut erhalten, doch dürfte die nachfolgende Beschreibung auch zur Erkennung des Weibchens genügen:

Länge ca. 12 mm. Hauptfarben eichelbraun und ockergelb.

Rüssel von der Länge des Abdomens, schwärzlich; Palpen bräunlich ockergelb mit schwarzen, zum Teile auffallend langen Haaren, das Endglied aufgerichtet und oben verbreitert, aber seitlich zusammengedrückt; Antennen bräunlich, das Endglied roströlich. Gesichtsfortsatz glänzend, oben braunschwarz, unten mehr horngelb; Rest des Gesichtes eichelbraun, mit ebensolchem Bart; Augen am trocknen Exemplare schwärzlich und glänzend, mit sehr feiner und kurzer gelblicher Pubescenz; Hinterkopf stark ausgehöhlt, gelb bestäubt.

Thorax durchwegs eichelbraun mit spärlicher und feiner dunkler Behaarung, die nur am Hinterende des Sternums stärker und länger wird.

Abdomen etwas durchscheinend, ockergelb, nach hinten zu mehr schwärzlich.

Beine oben eichelbraun, wie der Thorax; von den Knien an ockergelb, wie das Abdomen, die Füsse leicht bräunlich und die wenig dichte Behaarung schwarz.

Flügel sehr verwaschen sepiabräunlich; Costa gelblich; die grössen Adern lebergelb oder grünlich; Vorderast der Gabelader ohne deutlichen Winkel und ohne Anhang. Erste Hinterrands- und Analzelle geschlossen.

A especie lembra a *Esenbeckia ferrujinea* de MACQUART; o exemplar foi apanhado no Estado de ESPIRITO SANTO, no rio ITABAPOANA, em 19—11—08.

Dous outros machos foram apanhados em Dezembro de 1909. Todos estavam sugando flores. Uma figura será dada em ocasião oportuna.

Em seguida darei umas notas sobre o outro sexo de duas pangoninas, das quaes só um sexo era conhecido:

Pangonia nana. (Fig. 2). Com este nome FRANCIS WALKER em *Insecta Saundersiana* (*Londres*, 1856) descreveu um macho com a primeira celula marjinal posterior munida de um pedunculo comprido. Achou que por esta particularidade, desconhecida em outras especies, devia entrar numa subdivisão separada deste grupo mas em outro logar elle a coloca, junto com mais tres outras especies no seu genero *Fidena* que é mal circumscrito e dennido. Pelo menos duas destas especies e a propria *pangonia nana* quando se ignora este caracter das nervuras, correspondem completamente ao genero *Erephopsis* de RONDANI, onde a colocarei pelo menos provizoriamente. Podia-se pensar que o caracter mencionado era apenas uma variaçao accidental ou um atributo do sexo macho, mas estas hipotezes são arastadas pelas quatro femeas da coleção. Sobre a sua identidade com a especie de WALKER ha pouca duvida, visto haver concordancia tambem nos outros caracteres, como se pode observar na descrição que segue. Quanto ao habitat WALKER (e tambem mais recentemente RICARDO) só indicam o Brazil, mas pessoalmente nunca duvidei que a especie provinha da Amazonia, como a especie cuja descrição segue immediatamente no livro de WALKER e varias outras especies raras e

Die Art erinnert sehr an *Esenbeckia ferruginea* Macq.; das Exemplar wurde 19/11/08 am RIO ITABAPOANA in ESPIRITO SANTO gefangen. Zwei andere Männschen wurden im Dezember 1910 gefangen; sie sogen alle an Blumen. Eine Figur wird später gegeben werden.

Von zwei Pangoninen, von denen bisher nur das eine Geschlecht bekannt war, hatte ich Gelegenheit auch das andere kennen zu lernen und gebe hier einige diesbezügliche Angaben:

Pangonia nana. (Fig. 2). Unter diesem Namen beschrieb FRANCIS WALKER *in Insecta Saundersiana* (LONDON 1856) ein Männchen, bei dem die erste Hinterrandszelle auffallend lang gestielt ist. Wegen dieser, sonst unbekannten, Eigentümlichkeit sollte sie nach ihm in eine eigene Unterabteilung der Gruppe untergebracht werden; doch stellt er sie anderswo mit drei andern zusammen in sein kaum definiertes und schlecht abgegrenztes Genus *Fidena*. Zwei dieser Arten und, von dem erwähnten Charakter abgesehen, auch *P. nana* entsprechen aber sonst ganz dem Genus *Erephopsis* RONDANI, in welchem sie auch vorderhand verbleiben mag. Es schien denkbar, dass der eigentümliche Charakter des Geäders eine zufällige Variante oder Attribut des männlichen Geschlechtes sei, aber beides wird durch die mir vorliegenden vier Weibchen widerlegt. Ueber ihre vier Weibchen widerlegt. Ueber ihre Identität mit der WALKERschen Art besteht kein besonderer Zweifel, da auch die anderen Charaktere genügend übereinstimmen, wie aus der weiter unten gegebenen Beschreibung ersichtlich ist. Ueber den Fundort lautet die Angabe von WALKER (und ebenso die spätere von RICARDO) nur BRASILIEN; ich habe indessen nie daran gezweifelt, dass sie, wie die gleich darauf beschriebene *P. comprehensa*, aus dem Amazonasgebiete stamme, wie andere seltene und neuerdings nicht wieder aufgefundene Arten,

nunca mais encontradas, provavelmente devidas ao zelo colecionador e ás viajens extensas de BATES. O novo achado indica que a especie vinha de uma rejião mais distante, talvez de um dos afluentes meridionais do *Amazonas*. O fato de existir apenas um macho faz supôr que o centro de expansão da especie, que pelas informações ataca o homem, não foi atinjido. Uma especie de *pangonia* com este habito é citado por BATES como encontrada num só logar, se não me engano no Tapajoz, sendo que este trecho parece faltar na edição popular recente ; é tambem possivel que elle se referiu a especie *tenuistria* que colecionou em SANTARÉM e sobre os habitos da qual nada consta. Em geral as especies de *Erephopsis* só excepcionalmente atacam o homem e das outras pangoninas somente poucas chegam a molestal-o.

Dou agora uma descrição sucinta da femea :

Comprimento do corpo cerca de um centimetro, da aza 12 mm.

Tromba preta, com cerca de 7 mm. de comprimento minimo ; palpos ferrujinozos, o segundo articulo estreito e comprido com pêlos escuros ; antenas pardo-ferrujinozo, o processo facial conico tambem, o resto virando em cinzento enegrecido ; vertice enegrecido ; olhos de preto esverdeado com pubecencia esbranquiçada muito fina e curta ; occiput enegrecido ; barba de branco sujo, um tanto arruivado.

Abdome pouco comprido, bastante largo e um pouco achatado, pardo-ferrujinozo tornando-se mais escuro e finalmente enegrecido na porção apical.

Pernas ferrujineas, apenas a parte apical dos pés mais ou menos enegrecida.

Azas amarelas na costa, o resto hialino, apenas lijeiramente enfumaçado, as nervuras maiores mais pardas, as outras enegrecidas ; a primeira celula marjinal posterior fechada a distancia igual da marjem e da bifurcação da nervura forqui-

die wohl grösstenteils dem Sammelfleisse von BATES und seinen ausgedehnten Reisen zu verdanken waren.

Der neue Fund bestätigt dass sie wohl aus einem entlegeneren Teile des Gebietes, vielleicht von einem der südlichen Nebenflüsse stammte. Dass nur ein Männchen vorliegt, macht es wahrscheinlich, dass das Verbreitungszentrum der Art, welche, wie ich hörte, den Menschen mit ihren Stichen verfolgt, nicht erreicht wurde. Zwar zitiert BATES eine solche Art von einem einzigen Orte, wenn ich nicht irre, vom TAPAJÓZ (in der neuen populären Ausgabe seines Buches konnte ich die Stelle nicht mehr auffinden) ; es kömmt aber hier auch die Spezies tenuistria mit der Fundortsangabe SANTARÉM in Betracht, über deren Gewohnheiten nichts bekannt ist. Von den mir bekannten *Erephopsis*arten wird der Mensch nur ganz ausnahmsweise gestochen und auch unter den anderen *Pangoninen* belästigen ihn nur wenige Arten.

Ich gebe nun eine kurze Beschreibung der Weibchen :

Gesammtlänge ca. 1 cm. ; Flügellänge ca. 12 mm.

Rüssel schwärzlich, wenigstens 7 mm. lang ; Palpen rostfarben, das zweite Glied schmal und lang, mit dunklen Haaren ; Antennen bräunlich rostrot, der konische Gesichtsvorsprung ebenso, der Rest mehr schwärzlichgrau ; Scheitel schwärzlich ; Augen grünlichschwarz mit sehr feiner weisslicher Pubescenz, Hinterkopf schwärzlich, Bart schmutzig weiss, ins Rötliche spielend.

Abdomen mässig lang, ziemlich breit und etwas abgeflacht, bräunlich rostgelb, nach hinten zu dunkler bis schwärzlich.

Beine rostgelb, nur am Ende der Füsse mehr oder weniger schwärzlich.

Flügel nur an der Costa gelblich, sonst nahezu wasserklar und nur leicht getrübt, grössere Adern mehr braun, die übrigen schwärzlich, die erste Hinterrandszelle in der Mitte zwischen Rand und Bifurkation der Gabelader geschlossen, letztere mit einem Winkel, aber ohne deut-

lhada que aprezenta um angulo sem apendice. Halteres de um ocraceo pardacento, os capitulos esbranquiçados.

Quatro femeas, sofrivelmente conservados, desta especie procedem das marjens do Rio Guaporé em Mato Grosso perto da fronteira boliviana e foram apanhadas pelo farmaceutico Cezar Diogo que acompanhou a expedição do coronel Rondon.

Esenbeckia fuscipennis.

Num mato da fazenda, citada na descrição da *Bombylomyia splendens*, achei sentado numa folha ao lado do caminho um macho muito bonito desta especie. Pertencia ao tipo com as azas amarelas apenas na baze, e só tinha uma pequena janela em cada celula anal; o comprimento é pouco menor; os olhos, holopticos como em todos os machos, são glabros; o articulo terminal dos palpos parece com o da femea, sendo talvez um tanto mais estreito; o abdome tem a cor bastante escura.

Recebi do Sr. Zikan outro ♂ igual, porém um pouco maior.

Em seguida dou mais umas notas para o conhecimento da distribuição das varias especies:

Dicrania cervus uma ♀, do começo da estrada de ferro Madeira-Mamoré.

Erephopsis sorbens ♂, de Petropolis, aprezenta o processo facial conico (que falta aos machos de S. Paulo, sendo prezente nos de Espirito Santo.

Bombylomyia erythronotata, uma ♀ de Barbacena (Dr. Belisario Penna em 6/4/07.

Bambylomyia pseudoanalis, um ♂ do Rio Muriahé, em Minas (Zikan leg. 14/11/08).

Phaeoneura basilaris, muitas femeas de Santo Aleixo perto de Petropolis 3/2/09), uma ♀ de Jerusalem do Alegre (Espirito Santo).

Neopangonia pusilla, uma ♀ em Formozo (Serra da Bocaina) em fevereiro de 1910). Existem tambem perto de Petropolis.

lichen Anhang. Halteren ockerbräunlich, das Capitulum etwas weisslich.

Die vier leidlich erhaltenen Weibchen dieser Art stammen von den Ufern des Rio Guaporé in Matto Grosso nahe der bolivianischen Grenze, wo sie von Herrn Apotheker Cezar Diogo, Teilnehmer der Rondão'schen Expedition gesammelt wurden.

Esenbeckia fuscipennis.

In einem Walde der, bei *Bombylomyia splendens* genannten, Lokalität fand ich am Wegrande, ruhig an einem Blatte sitzend ein, sehr schönes Männchen obiger Art. Es war die Form mit nur an der Basis gelben Flügeln und diese zeigten nur in der Analzelle ein kleines Fenster. Die Statur ist nur wenig kleiner; die unbehaarten Augen stossen, wie bei allen Männchen, zusammen, das Palpenendglied ist wie beim Weibchen, höchstens etwas schmäler; der Hinterleib ist auffallend dunkel gefärbt. Von Herrn Zikan erhielt ich ein ähnliches, aber etwas grösseres ♂.

Im Folgenden gebe ich noch einige Mitteilungen als Beitrag zur Verbreitung der verschiedenen Arten:

Dicranias cervus, Ein ♀ vom Ausgangspunkt der Madeira-Mamorébahn.

Erephopsis sorbens, von Petropolis, hat den gewöhnlichen konischen Gesichtsfortsatz, wie die Männchen aus Espirito Santo und im Gegensatz zu denen von São Paulo.

Bombylomyia erythronotata, ein ♀ von Barbacena (Dr. Belisario Penna 6/4/07).

Bombylomyia pseudoanalis, ein ♂ vom Rio Muriahé in Minas (Zikán leg.)

Phaeomyia basilaris, Zahlreiche ♀♀ aus Santo Aleixo bei Petropolis 3/2/09, ein ♀ aus Jerusalem do Alegre (Espirito Santo).

Neopangonia pusilla, Ein ♀ bei Formoso (Serra da Bocaina), Febr. 1910. Auch bei Petropolis.

Diatomineura fenestrata existe tambem na Serra da Bocaina.

Esenbeckia bahiensis Bigot, uma femea apanhada pelo Dr. Soledade entre Theophilo Ottoni e o Rio Doce, corresponde bem á descrição.

Esenbeckia fasciata Macq. Uma ♀ muito bonita, mandada pelo Dr. Chagas de Lassance (Minas) parece pertencer a esta especie. Noto porem que o preto no primeiro anel apenas tarja a marjem posterior do escutelo e no segundo ha uma mancha mediana preta e outras duas laterais partindo da marjem anterior e chegando até ao meio do anel ; a primeira tem a forma e o tamanho do escutelo ; as outras são estreitas e retangulares ; são ligadas com a do meio por uma turvação muito fraca completando assim uma cinta ; em baixo o primeiro anel tem apenas uma cinta estreita anterior ; o segundo e terceiro tem uma mancha arredondada media e duas estreitas laterais em continuação das manchas ou da cinta em cima.

Esenbeckia prasiniventris Macq. Desta especie, ainda não assinalada no Brazil, recebemos de Lassance muitas ♀♀ apanhadas á tardinha em cavalos.

Esenbeckia lugubris Macq. parece ser bastante comum no Paraguay. Pelo Prof. Mario Bezzi e diretamente recebi varios exemplares apanhados pelo Sr. Schrottky.

Esenbeckia clari. Existe tambem no Salto Grande do Paranapanema.

Chrysops tristis foi encontrado por mim em campos da Serra da Bocaina.

Manguinhos, principios de Janeiro de 1911.

Diatomineura fenestrata, Auch in der Serra da Bocaina.

Esenbeckia bahiensis Bigot, ein gut übereinstimmendes ♀, von Dr. Soledade zwischen Theophilo Ottoni und dem Rio Doce gefangen.

Esenbeckia fasciata Macq. Ein sehr schönes ♀, von Dr. Chagas aus Lassance (Minas) eingesandt, gehört wohl hierher. Ich bemerke, dass das Schwarze am ersten Ringe nur den Hinterrand des Scutellums säumt ; vom Vorderrande des zweiten geht ein in Form und Grösse dem Scutellum gleichender mittlerer Fleck und zwei ganz seitliche und schmale rechteckige Flecke aus, die nur bis zur Mittellinie reichen und durch eine hauchartige Trübung zu einer Binde ergänzt werden ; unten ist das erste Segment vorne ganz schmal schwarz ; gesäumt, an den beiden nächsten findet sich eine schmale Fortsetzung der Seitenflecken, resp. der oberen Binde und je ein rundlicher, basaler Mittelfleck.

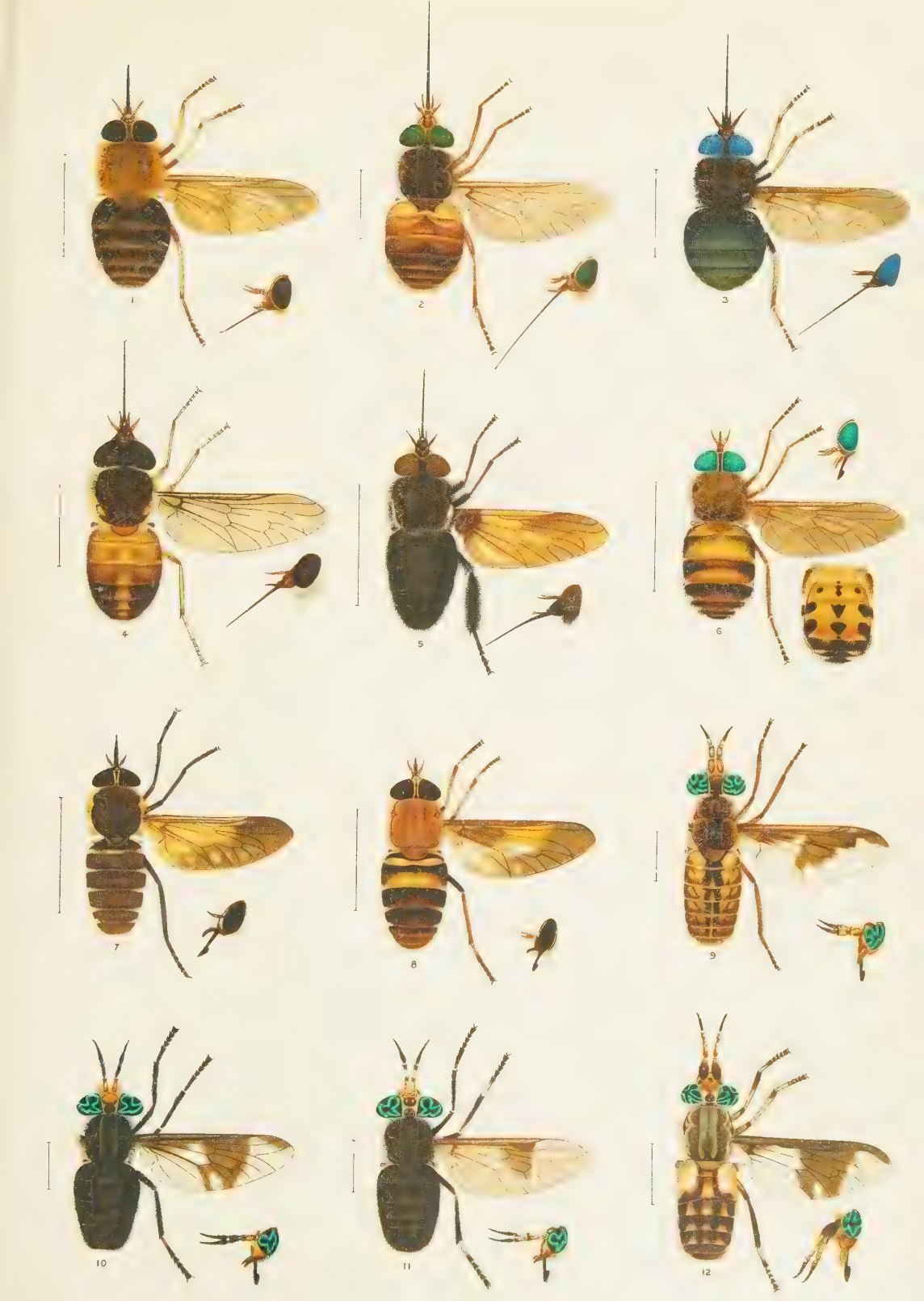
Esenbeckia prasiniventris Macq. Aus Lassance erhielt das Institut zahlreiche dieser, aus Brasilien bisher nicht gemeldeten Art, gegen Abend an Pferden gefangen.

Esenbeckia lugubris Macq. scheint in Paraguay ziemlich häufig zu sein. Von Schrottky gefangene ♀♀ erhielt ich teils direkt, teils durch Prof. Mario Bezzi.

Esenbeckia clari. Auch am Salto Grande do Paranapanema vorkommend.

Chrysops tristis wurde von mir auch auf den Campos der Serra Bocaina gefunden.

Manguinhos, Anf. Januar, 1911.



CastroSilva. del.

EXPLICAÇÃO DAS FIGURAS DA ESTAMPA 4.

Fig. 1. Erephopsis nubiapex n. sp.
» 2. » nana Walker.
» 3. » albitaeniata n. sp.
» 4. Bombylomyia splendens n. sp.
» 5. Laphriomyia mirabilis n. sp.
» 6. Esenbeckia inframaculata n. sp.
» 7. » mattogrossensis n. sp.
» 8. » neglecta n. sp.
» 9. Chrysops omissus n. sp.
» 10. » nigricorpus n. sp.
» 11. » parvifascia n. sp.
» 12. » bulbicornis n. sp.

Todas as figuras representam femeas. O tamanho natural do corpo é indicado pelo risco preto ao lado.

ERKLAERUNG DER FIGUREN AUF TAFEL 4.

Fig. 1. Erephopsis nubiapex n. sp.
» 2. » nana Walker.
» 3. » albitaeniata n. sp.
» 4. Bombylomyia splendens n. sp.
» 5. Laphriomyia mirabilis n. sp.
» 6. Esenbeckia inframaculata n. sp.
» 7. » mattogrossensis n. sp.
» 8. » neglecta n. sp.
» 9. Chrysops omissus n. sp.
» 10. » nigricorpus n. sp.
» 11. » parvifascia n. sp.
» 12. » bulbicornis n. sp.

Alle Figuren stellen Weibchen dar. Die natürliche Grösse des Körpers ist durch einen seitlichen Strich bezeichnet.

Sobre uma nova forma de Piedra

PELO

Dr. Paulo Horta.

(Com as estampas 5 e 6)

Sur une nouvelle forme de Piedra

PAR LE

Dr. Paulo Horta.

(Avec planches 5 et 6).

Entre as afeções nodozas dos cabelos humanos, a *Piedra*, se destaca pela orijem criptogamica desses nodulos, em contrapozição ás outras afeções nodozas, como o *monilethrix*, a *trichorhexis* e o *leptothrix* que, ou são de orijem não parazitaria ou de orijem bacteriana.

O nome de *Piedra* foi-lhe dado na Colombia, onde existe com certa frequencia no Estado de *Cauco* e em *Medelin*. capital do Estado de *Antioquia*. Colombianos são tambem os primeiros estudos a seu respeito, feitos em 1876 pelo Professor NICOLAU OZORIO e POZADA ARANGO. Estes autores, feito o estudo clinico da afeção, enviaram a especialistas europeos importante material, com o qual DESENNE, JUHEL-RENOY, MALCOM MORRIS, LYON e BEHREND puderam realizar bons trabalhos sobre a natureza criptogamica dos nodulos vistos nos cabelos.

Pensou-se durante muito tempo ser a *Piedra* peculiar á Colombia, não obstante haver sido, anteriormente aos trabalhos de

Par son origine cryptogamique la *piedra* se distingue des autres affections nodulaires des cheveux, telles que le *monilethrix*, la *trichorhexis* et la *lepothrix*, qui sont de nature non parasitique ou dues à des bactéries.

Le nom de *piedra* lui fut donné en Colombie, où elle s'observe assez fréquemment dans la province de CAUCO et à MEDELIN, capitale de la provence de ANTIOQUIA. C'est aussi en Colombie que les premières études sur cette affection ont été faites en 1876 par le professeur NICOLAU OZORIO et POZADA ARANGO. Après avoir étudié la partie clinique de la maladie, ces auteurs envoyèrent des matériaux importants à des spécialistes européens connus, tels que DESENNE, JUHEL-RENOY, MARCOLM MORRIS, LYON et BEHREND qui firent de bonnes études sur la nature cryptogamique des nodules, trouvés sur les cheveux.

On a pensé pendant longtemps que la *piedra* était particulière à la Colombie, quoique BEIGEL eût décrit, avant les

Ozorio, descrita por Beigel « a molestia dos chinós », cuja natureza criptogamica bastante contestada então, foi brilhantemente verificada em 1901 por Vuillemin. Outras formas europeas foram assinaladas por Behrend e por Unna e a literatura medica sobre a *Piedra* é bastante consideravel tendo toda razão Kaposi em notar que a importancia pratica da afeção não está em proporção com a serie consideravel de trabalhos importantes cujo interesse é quazi todo cientifico e relativo á historia geral dos epifitos do sistema pilar.

Denominaram « *piedra nostras* » aos cazos ocorridos na Europa e « *piedra colombica* » aos observados na Colombia. A falta de diferenciação carateristica nas afeções observadas nos dois continentes fez ver a inanidade dessa diferenciação e o proprio nome de Piedra tem sido ulteriormente combatido, sendo proposta por Juhel-Renoy a denominação de « *trichomycose nodular* » e por Vuillemin a de *trichosporia*, orijinaria do genero *Trichosporum*, creado por Behrend em 1890.

Contra ambas as denominações têm sido apontados inconvenientes, mas não podemos deixar de concordar com Unna no protesto contra a tentativa de substituição de um nome tão apropriado como « Piedra ». Assim se exprime o eminente professor de Hamburgo : « Eu tenho a convicção que nós, dermatolojistas, devemos ficar contentes quando um nome tão bonito, curto, sonoro, nada afirmando e a ninguem prejudicando, é aprezentado e não devemos perder de vista este nome. Um nome popular e tão significativo certamente não poderia mais inventar um dermatolojista habil que tenha sempre a intenção de colocar um sentido especial na denominação ».

De fato, o nome de Piedra provem da dureza dos nodulos existentes nos cabelos, que, pelo tato, produzem a sensação de pequenas pedras situadas no eixo dos mesmos ; no ato de pentear sente-se perfeitamente essa impressão, sendo dificil dezembaraçar os cabelos piedricos.

travaux de Osorio, la *maladie des chignons* dont la nature microbienne fut alors assez contestée, mais brillamment établie en 1901 par Vuillemin. D'autres formes européennes furent signalées par Behrend et Unna et la littérature médicale sur la *piedra* est assez vaste, de sorte que Kaposi put remarquer avec raison que l'importance pratique de l'affection ne correspond aucunement à la série considérable de travaux importants dont l'intérêt est presque absolument scientifique et se rattache à l'histoire générale des epiphytes du système pilaire.

On a appelé *piedra nostras* les cas qui se donnèrent en Europe et *piedra columbiana* ceux qu'on observe en Colombie. Le défaut de différences caractéristiques entre les cas observés dans les deux continents a montré le peu de valeur de cette distinction et en conséquence même le nom de piedra a été critiqué, celui de « *trichomycosis nodularis* » ayant été proposé par Juhel-Renoy et par Vuillemin celui de *trichosporie*, dérivé du genre *trichosporum*, créé par Behrend en 1890.

On a trouvé des objections aux deux noms, mais je suis d'accord avec Unna, pour protester contre les essais de substitution d'un nom tellement approprié, comme l'est celui de *piedra*. Voici comment s'exprime l'éminent professeur de Hambourg : « Je suis convaincu que nous dermatologistes nous devrions être contents quant il s'offre un nom si joli, court et sonore, qui n'affirme rien et ne fait de tort à personne, et que nous ne devons pas le perdre de vue. Un nom tellement populaire et significatif ne saurait être inventé, même par un dermatologiste habile qui aurait toujours la préoccupation d'attacher une signification particulière a sa désignation ».

En effet le nom de *piedra* se lie à la dureté des nodules qui donnent au toucher l'impression de petites pierres, situées dans l'axe des cheveux ; en se peignant on obtient distinctement cette impression et il est difficile de débrouiller les cheveux.

No Brazil a literatura medica sobre a Piedra, depois que o professor Pedro Severiano de Magalhães comprovou sua existencia entre nós, já é digna de figurar ao lado da literatura europea.

São bem conhecidos 14 cazos de Piedra, não incluindo vinte e poucos cazos ocorridos na Bahia, citados por Eduardo Rabello e sobre os quais não encontrámos outra referencia.

O professor Pedro Severiano publicou em 1901 seu primeiro trabalho, intitulado « Um caso autochtone de Piedra » e além de duas comunicações á Academia de Ciencias de Paris, divulgou em 1906 novo cazo de Piedra, que lhe fora enviado, para estudo, pelo Dr. Emilio Gomes.

Logo depois de conhecido o primeiro cazo do Professor Severiano, Victor Godinho, de S. Paulo, relata a observação de uma doente, por elle vista em Junho de 1896 e cujo exame microscopico fora feito por Francisco Fajardo ; cronolojicamente, foi este o primeiro cazo observado no Brazil.

No 6.° Congresso Brazileiro de Medicina e Cirurjia, reunido em S. Paulo, em 1907, Gonçalo Moniz e Prado Valladares comunicam seis cazos observados na Bahia e no 4.° Congresso Medico Latino-Americano, do Rio de Janeiro, Rabello relata dois cazos encontrados no Rio Em 1909 e 1910, encontrámos dois cazos de Piedra, ambos do Rio de Janeiro, em estudantes, devendo á gentileza dos Snrs. Vieira de Barros e Eugenio Latour a ocazião de possuir tão abundante material de estudo como o que obtivemos desses dois portadores de Piedra. Rezolvemos então fazer um estudo mais particular da questão e graças ao Dr. Oswaldo Cruz, nosso Diretor, obtivemos cabelos piedricos enviados da Bahia pelo Professor Gonçalo Moniz e todo o magnifico material, composto de cabelos e culturas do Dr. Eduardo Rabello. Os cabelos enviados pelo Professor Moniz eram provenientes de dois

Depuis que le professeur Pedro Severiano de Magalhães prouva que la *piedra* existe au Brésil, la littératur brésilienne sur cette affection s'est accrue et mérite d'être citée à côté de celle de l'Europe.

Il y a quatorze cas bien connus, sans conter une vingtaine d'autres observés à Bahia et cités par Eduardo Rabello, mais sur lesquels je ne puis trouver des renseignements.

Le professeur Magalhães publia son premier travail en 1901, sous le titre : «Un cas autochthone de piédra » et, en sus de deux communications à l'Académie des Sciences de Paris, fit part en 1906 d'un nouveau cas de piedra, envoyé par le Dr. Emilio Gomes pour être étudié par lui.

Peu de temps après la publication du premier cas du professeur Magalhães, Victor Godinho de São Paulo donna l'observation d'une malade qu'il avait vu en 1896, l'étude microscopique ayant été faite par Francisco Fajardo ; chronologiquement c'était le premier cas observé au Brésil.

Au sixième congrès de Médecine et Chirurgie, réuni à São Paulo en 1907, Gonçalo Moniz et Prado Valladares communiquèrent un cas observé à Bahia et au quatrième Congrès de l'Amérique Latine à Rio de Janeiro Rabello se refère à deux cas observés dans cette ville. En 1909 et 1910 j'ai observé deux cas de piedra sur des étudiants de Rio de Janeiro et je dois à l'obligeance de MM. Vieira de Barros et Eugenio Latour, de disposer de matériaux d'étude aussi abondants que ceux que j'obtins de ces deux porteurs de piedra. Je me décidai alors de faire une étude plus exacte de la question et par les soins de notre directeur, Dr. Oswaldo Cruz, je reçus les cheveux de piedra du professeur Moniz et toute la collection splendide de cheveux et cultures du docteur Eduardo Rabello. Les cheveux envoyés par le prof. Moniz provenaient de deux cas, dont l'un était posté-

cazos seus, sendo um posterior aos seis comunicados ao Congresso de S. Paulo.

O Dr. Rabello nos confiou cabelos de seus dois doentes e culturas por elle feitas com os nodulos piedricos, sendo uma semelhante á descrita por Juhel-Renoy e outra «sem a forma vermicular de Juhel Renoy e aprezentando macroscopicamente a forma de um *tricophyton* de cultura negra, mercê de uma substancia glutinoza escura que colora a colonia », como a respeito se manifestou nas concluzões do seu relatorio sobre as dermatomicozes americanas aprezentado ao 4.° Congresso Medico Latino-Americano. Neste relatorio julgava Rabello interessante verificar qual a relação que guarda esse germen com a produção do nodulo piedrico, tambem pigmentado.

Dos 14 cazos brazileiros de Piedra, aqui rejistrados, sómente um dos cazos de Rabello tinha nodulos claros e moveis nos cabelos, não aprezentando nem a côr nem a fixação que todos os outros mostravam ; de fato, em 13 cazos os nodulos piedricos, viziveis a olho nú, duros, rezistentes, tinham uma côr castanho-escura, quazi negra.

Não foi vista ainda no Brazil a localização da Piedra, como é comum na Europa, nos pêlos do bigode e da barba, não obstante apenas 3 cazos terem sido de pessôas do sexo feminino, sendo, portanto, a grande maioria dos cazos em individuos do sexo masculino, todos moços, predominando a classe dos estudantes que concorrem com seis cazos para esta estatistica.

Na Colombia se observa o inverso daqui, pois lá a maioria dos afetados de Piedra são mulheres jovens.

Passamos agora a referir os estudos a que procedemos com o material de nossos dois doentes e os cabelos e culturas que nos foram enviados.

Em ambos os cazos que observámos tratava-se de moços, estudantes, em cujos antecedentes não havia menção de cazo algum identico, nem houve propagação da afeção entre as pessôas com que conviviam.

Os cuidados hijienicos com o couro cabeludo eram escrupulozamente observados e á não ser o uzo, mais ou menos cons

rieur aux six cas communiqués au congrès de São Paulo.

Le Dr. Rabello me confia les cheveux de deux malades et les cultures, obtenues par un des nodules de piedra, dont l'une resemblait à la description de Juhel-Renoy et une autre, sans la forme vermiculaire de la première et montrant macroscopiquement la forme d'un trichophyton de couleur noire. Cette particularité était due à une substance gluante qui colore la colonie, comme il s'exprima dans son relatoire sur les dermatomycoses américaines, présenté au Quatrième Congrès de l'Amérique latine. Il trouvait intéressant de vérifier qu'elle était la relation que ce germe pourrait avoir avec la production du nodule piedrique, pigmenté de même.

Des quatorze cas brésiliens cités un seul de Rabello avait des nodules clairs et mobiles, n'ayant ni la couleur, ni la fixation propres aux autres ; en effet dans treize de ces cas les nodules piedriques, visibles à l'oeil nu, étaient durs, résistants et d'une couleur brun foncé, presque noir, On n'a pas encore vu au Brésil la localisation sur les poils de la barbe et de la moustache ; pourtant, entre les individus affectés, il n'y avait que trois du sexe feminin et la grande majorité étaient des hommes, tous assez jeunes et apartenant en grande partie à la classe des étudiants qui contribuait six cas à cette statistique. En Colombie par contre la plupart des observations furent faites sur de jeunes femmes.

Passons maintenant à exposer les études faites sur nos deux malades, ainsi que sur les cheveux et les cultures qui noux fûrent envoyés.

Nos deux observations personelles furent faites sur des étudiants dont les antécédants n'accusaient ni contact avec des cas semblables, ni propagation aux personnes, avec lesquelles ils habitaient.

Les soins hygiéniques du cuir chevelu étaient scrupuleusement observés et, hormis les pomades employés plus ou moins régulièrement, il n'y a pas de substances qu'on aurait pu accuser d'avoir causé ou pour le

tante, de *brilhantinas*, nenhuma outra substancia poderia ser incriminada como, senão cauzadora, ao menos coadjuvante no dezenvolvimento da triconodoze

Do primeiro cazo tivemos copioza porção de cabelos e do segundo conservamos quazi toda a cabeleira do portador da piedra, por ser tão intensa a afeção que foi o corte quazi completo dos cabelos o meio mais pratico de obter a cura rapida ; neste individuo, á distancia de alguns metros se percebia placas escuras nas rejiões laterais da cabeça, contrastando com a côr mais clara dos cabelos em outras zonas ; em sua caza diziam que elle tinha « pixe » no cabelo e de fato, ao se aproximar do paciente tinha-se a impressão que foram aplicadas sobre certas partes da cabeça camadas extensas de alguma substancia preta, brilhante e viscoza.

Caracteres dos cabelos doentes :

Observando-se com alguma atenção via-se que os cabelos estavam cheios de multidão de pequenos nodulos, de tamanho variavel, rezistentes e produzindo atrito apreciavel pela palpação.

Este mesmo ruido era percebido fazendo-se passar um pente pela cabeça. A rezistencia do cabelo á tração era perfeitamente normal e os nodulos duros e fortemente aderentes ao cabelo, tinham uma côr escura acentuada.

Retirando-se um cabelo afetado e examinando-o com uma lente fraca notava-se que grande numero de nodulos pardo-escuros estava assestado sobre o pêlo, ora reunidos, 2, 3 e mais em serie, ora afastados, deixando uma zona intercalar de pêlo normal, ás vezes colocados lateralmente como simples proeminencias, quazi sempre envolvendo o pêlo como um pequeno estojo enegrecido e de bordos irregulares ; com aumento maior distinguia-se uma grande quantidade de pequenos nodulos e aderencias escuras, completamente inviziveis a olho nú. Algumas vezes era possivel verificar a constituição criptogamica dessas aderencias, pois era ella constituida de

moins favorisé le développement de la trichonodose.

Du premier cas j'ai reçu un grand nombre de cheveux et du second j'ai conservé presque toute la chevelure, l'affection ayant été tellement intense que le moyen le plus pratique, pour obtenir une guérison rapide, paraissait la coupe à-peu-près complète des cheveux. Chez cet individu on voyait, à une distance de quelques mètres, des plaques sombres sur les régions latérales de la tête qui contrastaient avec la couleur plus claire d'autres endroits ; on disait chez lui, qu'il avait de la poix sur les cheveux, et en effet, en s'approchant du malade, on avait l'impression qu'on lui avait appliqué sur certaines parties de la tête des couches étendues d'une substance noire, brillante et visqueuse.

Caractères des cheveux malades.

En observant quelque peu attentivement les cheveux, on voyait qu'ils étaient couverts de petits nodules de grosseur variable, résistants et donnant au toucher une sensation nette de friction. On entendait un bruit correspondant en pasant un peigne sur la tête. La résistance des cheveux à la traction était tout-à-fait normale et les nodules durs et fortement adhérents avaient une couleur foncée bien accusée.

Enlevant un des cheveux et l'examinant avec un grosissement faible, on y voyait un grand nombre de nodules d'un brun fonçé, soit réunis par groupes de deux, trois et même davantage, soit éloignés et séparés par une partie normale, parfois posés latéralement et faisant saillie, mais généralement enfermant le cheveu comme un étui noirâtre à bords irréguliers ; avec un grossissement plus fort on distinguait un grand nombre de petits nodules et adhérences foncés qui étaient complètement invisibles à oeil nu. Quelquefois on pouvait reconnaitre la nature cryptogamique de ses corps adhérents, puisqu'ils cousistaient d'une simple couche

simples camada de um mozaico, cuja estrutura estudaremos adiante ; na figura 6 da Est. 5 reprezentamos uma saliencia piedrica exatamente nestas condições. Nos nodulos maiores e por isso mesmo mais compactos era impossivel distinguir o cogumelo que os formava ; apenas a dissociação pela potassa ou pela soda a 40 % permitia decifrar-lhes a contextura.

Exame do parazito nos cabelos :

Em todos os nodulos era facil estabelecer na parte periferica, a existencia de zonas mais claras em que se distingue perfeitamente hifas segmentadas com a mesma dispozição dos micelios esporulados dos tricófitos megasporios. O mozaico descrito neste cogumelo, no pêlo, por todos os autores, tem a mesma orijem que o mozaico dos tricofitos e do microsporio *Audouini* : é o rezultado da pressão reciproca das hifas micelianas, cujo processo de segmentação é aqui muito intenso, sendo os septos muito aproximados. E' suficiente tomar para exame uma zona em que exista uma pequena saliencia, inicio do futuro nodulo, para que se perceba exatamente essa estrutura, com uma lente de aumento forte, sem auxilio de clarificante ou liquido dissociador algum. Nas zonas mais exteriores é apenas visto o mozaico compacto formado por corpusculos de tamanho nem sempre igual, uns poliedricos e de bordos regulares, outros redondos, outros mais alongados, ovais ; á proporção que se caminha para a parte interna ou para a zona na qual se expande o parazito, os articulos micelianos são bem evidenciados e os corpusculos vão-se alongando até se encontrar zonas em que a dicotomização vem tirar toda duvida acerca da natureza desse micelio. A terminação das hifas faz-se quazi sempre por meio de elementos menores, um pouco ovalares. Nas zonas mais compactas do parazito a côr é mais acentuada. e, em geral, é amarela-suja-escura, tornando-se mais clara nas zonas perifericas, de invazão. Observando-se com grande aumento vê-se que a coloração do parazito se aproxima mais de um amarelo esverdeado sujo,

en mosaïque, dont la formation sera étudiée plus bas ; la fig. 6, planche 5 représente une saillie de *piedra* qui se trouve exactement dans cet état. Dans les nodules plus grands et par suite plus compacts on ne pouvait distinguer le champignon qui les formait ; ce n'est qu'en les traitant avec des solution de potasse ou de soude qu'on réussissait à en déchiffrer la structure.

Examination des parasites sur les cheveux.

Dans tous les nodules on constate facilement dans les parties périphériques des zones plus claires, où l'on distingue parfaitement des hyphes segmentées avec la même disposition des myceles sporulés, comme chez les thrichophytons megaspores. Le mosaïque, décrit par tous les auteurs dans les cheveux infestés par ce champignon, a la même origine que le mosaïque des trichophytons et du *microsporon Audouini* ; il résulte de la pression réciproque des hyphes mycéliennes, dont le procès de segmentation est ici très actif, avec les cloisons très rapprochés. Il suffit de choisir pour l'examen une zone avec une petite saillie, indice d'un nodule en formation, pour reconnaître cette structure avec un grossissement assez fort, sans le secours d'un réactif, destiné à dissocier les éléments ou à les rendre plus visibles. Dans les zones antérieures on ne voit guère que le mosaïque compact, formé par des corpuscules de grandeur variable, les uns régulièrement polyédriques, les autres plus allongés, de forme ovale ; à mesure qu'on arrive à la partie interne ou à la zone d'expansion du parasite, les articles mycéliens deviennent bien distincts et les corpuscules s'allongent jusqu'à ce que l'on trouve des zones, où la dichotomie enlève tout doute sur la nature de ce mycèle. Les hyphes se terminent presque toujours par des éléments plus petits et un peu ovales. Aux zones plus compactes du champignon la coloration est plus intense ; en général elle est d'un jaune sâle et sombre, devenant plus claire aux zones d'invasion périphériques. Employant un grossissement fort,

de matizes diferentes, conforme a zona. Na parte periferica dos articulos micelianos e dos mozaicos esporiformes, a côr é forte, tendo-se a impressão de existencia de um envolucro rezistente bastante corado. Entre as hifas e os articulos que formam o mozaico existe substancia glutinoza, amarelo-esverdeada, que é perfeitamente apreciavel nos preparados dos grandes nodulos apoz dissociação. Não encontrámos absolutamente os bastonetes, descritos por Desenne e que, no dizer de Juhel-Renoy, quando em colonias compactas, formam a substancia amarelo-verdoenga a que é devida a rezistencia e dureza das nodozidades piedricas e comparavel á substancia mucilajinoza do *favus*.

Dissociando-se o pêlo pela potassa com a tecnica uzual, apenas notamos massas mais ou menos volumozas de granulações escuras, extremamente pequenas, refringentes e que atribuimos á corpusculos dissolvidos pela potassa e cuja natureza ignoramos ; não se trata de esporios nem tampouco de germens. Formações importantissimas e que não vimos descritas por autor algum são grandes cistos ovalares, que, em grandes quantidades estão mergulhados no interior de todos os nodulos que tivemos ocazião de examinar e que vimos sempre no cabelo dos seis cazos de que temos material, tendo exatamente a mesma morfolojia, quer nos cabelos dos cazos do Rio de Janeiro, quer nos cabelos provenientes da Bahia. A impressão grosseira que se tem quando se vê pela primeira vez estes cistos é que se trate de formas de reprodução de algum coccidio em faze de esporogonia. Esses cistos aprezentam uma seriação tão caraterística que é possivel acompanhar sua evolução desde a faze inicial até á de sua rutura, libertando e deixando cair no interior do micelio elementos longos, fuziformes, um pouco recurvados e tendo as extremidades munidas de um cilio, que têm quazi sempre um terço do comprimento delles. A quantidade não só desses cistos como dos elementos fuziformes é tão grande e seu volume se destaca

on voit la coloration du parasite s'approcher plutôt d'un jaune verdâtre sâle, différant en nuance selon la zone. Á la partie périphérique des articles mycéliens et des mosaïques à forme de spores, la couleur est intense, donnant l'impression de la présence d'une enveloppe résistante, assez fortement colorée. Entre les hyphes et les articles qui forment le mosaïque il y a une substance gluante, jaune-verdâtre, qu'on reconnait parfaitement après dissociation dans les préparations des nodules grands. Je n'ai point trouvé les bâtonnets décrits par Desenne qui, selon Juhel-Renoy, réunis en colonies compactes, formeraient la substance jaune-verdâtre, à laquelle les nodules de *piedra* doivent leur dureté et résistance et que l'on pourrait comparer à la substance mucilagineuse du favus.

En dissociant le cheveu en solution de potasse et employant la technique habituelle, je n'ai trouvé que des masses plus ou moins volumineuses de granulations sombres, extrêmement petites et refringentes, que j'attribue à des substances de nature inconnue, mises en évidence par la potasse ; ce ne sont point des spores, ni des germes. Des formes très importantes dont je ne trouve, aucune description, sont de grands kystes ovales qui se trouvent logés, en grand nombre, à l'intérieur de tous les nodules que j'ai examiné et que j'ai vu toujours sur les cheveux des six cas dont j'ai des spécimens, avec une morphologie égale pour les cas de Rio de Janeiro, comme pour ceux de Bahia. L'impression grossière, obtenue à la première vue de ces kystes, est que ce soient des coccidies en forme de sporogonie. Ils montrent des étapes tellement caractéristiques que l'on peut accompagner leur développement depuis le commencement, jusqu'à leur rupture qui laisse échapper dans le mycèle des corpuscules allongés, fusiformes, un peu courbés et munis aux deux extrémités d'un cil dont la longueur est généralement d'un tiers de celle du corpuscule. Le nombre de ces kystes et des corps fusiformes est généralement tellement grand et leur volume

tanto no meio dos elementos do cogumelo que é dificil admitir sua existencia nos nodulos piedricos colombianos e nos estudados na Europa por pesquizadores tão competentes, a quem não escapariam essas formações que vêm, talvez, projetar uma luz nova sobre a classificação do parazito da piedra.

Não ha a menor duvida que não se trata aqui de algum protozoario, mas sim de formações dependentes de algum bolor porque lonje de dezaparecerem com a ação da potassa, ao contrario melhor se destacam.

A faze inicial destes cistos é constituida por grande celula em que é bem vizivel uma membrana envoltoria, circundando uma zona clara, estreita, que limita a massa protoplasmica interna em que quazi sempre se vê já um inicio de segmentação, (Est. 5, Fig. 8). A membrana e a zona vizinha clara permanecem durante todo o processo nas mesmas condições, emquanto transformações importantes tem logar na massa plasmica central. Ora o protoplasma se condensa em certos pontos, como na (Est. 5, Fig. 9) ficando uma esfera da protoplasma mais claro no centro da zona central ; ora, como em outra faze subsequente, (Est. 5, Fig. 10) encontramos a massa plasmica já subdividida em pequenos elementos constituidos por membrana, zona clara periferica e zona protoplasmica interna. Esses elementos dão a impressão de serem salientes tomando então o cisto o aspecto de morula. Daí em diante as fazes se sucedem tipicas como em um ocisto de coccidio que evolve para a esporogonia. O numero de elementos alongados contidos no seu interior, é normalmente de 8, porém temos visto, não raro, maior numero. A capsula externa, rompendo-se, põe em liberdade esses elementos, que se assemelham de modo notavel com os esporozoitos de coccidios. No interior desses corpos fuziformes não ha septos.

As figuras anexas a este trabalho (Est. 5, Fig. 8 a 19) esclarecem bem a questão e é suficiente dissociar com potassa,

contraste tant avec des autres formes du champignon qu'il est difficille d'admettre leur présence dans les nodules de *piedra* de la Colombie et de ceux étudiés en Europe par des experts tellement compétents que ces formations, qui peut être jetteront une nouvelle lumière sur la classification du parasite de la *piedra*, n'auraient guère pu leur échapper.

Tout de même, il est évident qu'il ne peut se traiter ici d'un protozoaire et que ce sont des formes appartenant à quelque hyphomycète qui, loin de disparaître sous l'action de la potasse, deviennent au contraire plus distinctes.

La phase initiale de ces kystes est représentée par une grande cellule à membrane bien visible entravant une zone claire et étroite autour d'une masse protoplasmique interne qui généralement montre déjà un commencement de segmentation (Pl. 5, fig. 8). La membrane et la zone claire voisine se conservent pendant tout le procès en même état, tandis que des transformations importantes se passent dans la masse plasmique centrale. Parfois le protoplasme se condense en certains points (Pl. 5, fig. 9) et il reste une boule de protoplasme plus clair, au milieu de la masse centrale ; d'autres fois, dans une phase postérieure (planche 5, fig. 10), nous trouvons la masse plasmique déjà divisée en petits éléments, formés par une membrane, une zone extérieure claire et une masse interne de protoplasme. Ces éléments apparaissent comme en relief et le kyste présente ainsi l'apparence d'une *morula*. Ensuite se succèdent les phases typiques, comme dans un okyste de coccidie qui évolue à la sporogonie. Le nombre des corps allongés, qu'ils renferment, est généralement de 8, mais j'ai vu assez souvent un plus grand nombre. La capsule externe se rompt et laisse échapper les éléments qui montrent une ressemblance curieuse avec les sporozoites des coccidies. Il n'y a pas de cloisons à l'intérieur de ces corps fusiformes.

Les figures accompagnant cette étude (Planche 5, fig. 8—14) représentent bien

entre lamina e laminula, um nodulo dos cabelos que possuimos, para que esses aspetos se evidenciem.

Seria possivel considerar esses cistos como ascos, contendo tipicos ascosporios em seu interior ; quanto á existencia dos cilios talvez não devam ser encarados como cilios propriamente ditos, pois como adiante mostraremos, conseguimos surpreender sua germinação : simples rudimentos de micelio talvez seja a sua verdadeira significação. Aguardamos, entretanto, a opinião dos competentes, cuja atenção se prenderá certamente á existencia destes corpusculos ainda não descritos na Piedra e que esperamos, servirão para definitiva classificação de seu cogumelo, em que são tão notaveis as diverjencias entre eminentes micologos que se têm ocupado com este assunto. Na literatura micolojica não encontrámos referencias ás formações semelhantes. O mecanismo de sua formação, os filamentos existentes nas extremidades, a falta de septos no interior desses corpos fuziformes, tornam impossivel qualquer aproximação com os conidios fuziformes pluriseptados que se observam em quazi todos os microsporios e tricofitos.

Além desses cistos encontramos articulos micelianos, no parazito da piedra, que merecem descrição mais minucioza e que consistem em segmentos de maior diametro, arredondados, ora na continuidade da hifa, ora um pouco lateralmente, providos de membrana mais espessa e de massa de protoplasma mais condensada e intensamente córada que os outros articulos. A semelhança nos parece exata com os clamidosporios, que se observam em certos tricofitos, especialmente com os clamidosporios dos tricofitos faviformes.

Cultura do parazito.

Semeámos sempre os nodulos piedricos no meio de prova de Sabouraud, com maltoze, procurando colocar grande numero de nodulos no meio de cultura afim de obtermos o maior numero possivel de colonias identicas. Cortavamos os cabelos em peque-

ce procès et il suffit de dissocier un nodule quelconque des cheveux de ces cas dans la solution de potasse, pour observer toutes ces phases dans une préparation microscopique.

On pourrait considérer ces kystes comme asques, contenant des ascospores typiques ; quant aux cils, peut-être ils ne doivent pas être considérés comme cils proprement dits, parce que, comme j'exposerai plus tard, j'ai réussi à observer leur germination ; peut-être s'agit-il de simples rudiments de mycèle. J'attends tout-de-même l'opinion des experts qui certainement tourneront leur attention sur ces corpuscules pas encore décrits et qui pourraient servir à la classification définitive du champignon de la *piedra*, sur lequel les opinions des auteurs, qui ont étudié la question, sont tellement en desaccord. Dans la littérature mycologique je n'ai pas trouvé mention de formes semblables. Le procès de leur formation et les filaments qui s'observent à leurs extrémités, le manque de cloisons dans ces corps fusiformes ne permettent pas de les rapprocher aux conidies pluriseptés, que l'on observe chez presque tous les microscoporons et trichophytons. A côté de ces kystes, j'ai trouvé chez le champignon de la *piedra* des articles mycéliens qui méritent une description plus minucieuse ; ils consistent en segments arrondis, de diamètre plus grand, placés, soit dans la continuité des hyphes, soit un peu latéralement et ont la membrane plus épaisse et une masse de protoplasme, plus condensée et de couleur plus intense que dans les autres articles. Je trouve qu'ils rapellent exactement les chlamydospores de certains trichophytons et spécialement des faviformes.

Culture du parasite.

J'ai toujours semé les nodules de *piedra* sur le milieu d'épreuve de Sabouraud (à maltose), cherchant de placer un grand nombre de nodules, afin de recevoir sur le même milieu autant de colonies semblables que possible. Avec des ciseaux

nos fragmentos quazi apenas constituidos pelos nodulos, com uma tezourinha flambada, estando o cabelo sobre uma lamina esterilizada e, com alça de paltina, tambem esterilizada, levavamos essas particulas para o meio da cultura, deixando o espaço de uns 3 centimetros entre cada sementeira.

Grande foi nossa surpreza ao observarmos que as culturas só muito raramente mostravam colonias semelhantes ás de JUHEL-RENOY, classicamente descritas como as do parazito da piedra, havendo cazos como o nosso segundo, e o ultimo do Professor GONÇALO MONIZ de que absolutamente não obtivemos cultura alguma vermiforme ; no entanto o parazito situado no nodulo se dezenvolvia e daí rezultava uma colonia dura rezistente á agulha de platina, cuja côr variava conforme a idade do dezenvolvimento. O aspeto era de *tricophyton acuminatum* escuro. Essas colonias eram perfeitamente iguais ás que RABELLO vira se dezenvolver em suas culturas e recentemente LINDENBERG nos afirmou ter obtido em S. Paulo quando semeara cabelos enviados da Bahia por GONÇALO MONIZ. RABELLO afirma em seu relatorio que as colonias negras eram em numero tal que em um de seus cazos a colonia semelhante á vermiforme de RENOY era em numero de 1 ou 2, para 12 e mais das outras, fato confirmado verbalmente por LINDENBERG em relação a suas culturas.

Varias vezes repetimos as experiencias de culturas, sempre nos utilizando do meio de prova de SABOURAUD, preparado com a tecnica uzada por este eminente micologo, servindo-nos constantemente de maltoze CHANUT ; com o meio de SABOURAUD feito com glicoze os rezultados obtidos foram identicos aos do meio maltozado. Entretanto convem notar que a maltoze favorece o dezenvolvimento da cultura, aparecendo as colonias mais depressa e ciecendo mais rapidamente.

Nessas repetidas experiencias o rezultado foi uniformemente igual ; cabelos flambés et sur une lame stérile je coupai les cheveux en petits fragments, formés presque exclusivement par des nodules, et les portai avec une ansi de platine stérilisée sur les milieu de culture, laissant un espace de 3 centimètres entre les points d'ensemencement.

Je fus très étonné en observant que les cultures ne montraient que très rarement des colonies, semblables à celles de JUHEL-RENOY, décrites comme classiques pour le champignon de la piedra et qu'il y avait même des cas, comme mon second et le dernier du professeur GONÇALO MONIZ, qui ne nous donnérent absolument pas de cultures vermiformes, quoique le parasite dans le nodule se développât en produisant une colonie, dure et résitante à l'aiguille de platine et variant en couleur selon son âge. L'aspect était celui d'un *trichophytum acuminatum*, de couleur foncée, et ces colonies étaient parfaitement égales à celles que RABELLO avait vu se développer dans ces cultures et que LINDENBERG avait obtenu à S. Paulo, en ensemençant des cheveux envoyés de Bahia par GONÇALO MUNIZ. RABELLO affirme dans son relatoire que le nombre des colonies noires était tel, que dans un de ces cas la colonie semblable à la vermiforme de RENOY se trouvait en proportion de 1 ou 2 pour 12 ou davantage des autres, fait qui fut verbalement confirmé par LINDENBERG à propos des cultures faites par lui.

J'ai répété plusieures fois les expériences de culture, me servant toujours du milieu d'épreuve de SABOURAUD, préparé selon la technique de cet éminent mycologiste, et de maltose de CHANUT ; si le milieu de SABOURAUD était fait avec de la glycose, j'obtenais les mêmes résultats qu'avec le milieu maltosé. Il convient pourtant de noter, que la maltose favorise le développement des cultures, les colonies apparaissant plus vite et croissant plus rapidement.

Dans ces expériences répétées le résultat fut constamment le même ; les cheveux, même deux mois après avoir été coupés,

semeados até dois mezes depois de cortados deram-nos sempre as colonias escuras e glutinozas.

Observámos como uma coincidencia notavel e que talvez explique este fato serem extremamente ricos em cistos os nodulos do nosso segundo cazo e do setimo do Professor Gonçalo Moniz.

Nos nodulos piedricos dos cazos de Rabello que deram colonias iguais ás de Juhel-Renoy o numero dos cistos era sensivelmente inferior aos vistos nos nodulos supra-citados.

Assim, a importancia dessas colonias pigmentadas se nos afigurava grande, tanto mais quanto o pigmento era perfeitamente identico ao do nodulo piedrico e a dureza exatamente igual.

Rezolvemos então estudar o dezenvolvimento dessas colonias e adoptámos um processo que nos deu o melhor rezultado: em logar de fazer gotas pendentes, segundo a tecnica de Sabouraud, colocavamos os nodulos em balões com o meio de prova deste, e, com a espatula de platina, á proporção que se ia dezenvolvendo a cultura iamos retirando as colonias inteiras e as estudavamos em preparados a fresco, em condições muito superiores ás da gota pendente em que o meio de cultura é muito reduzido e as probabilidades de contaminação por cogumelos estranhos extremamente numerozas. A rezistencia da colonia simplifica ainda mais o processo e com o esmagamento della entre lamina e laminula, com ou sem potassa, destacava-se todo o agar que ainda pudesse estar aderente e o estudo podia se fazer em otimas condições.

Com esta tecnica acompanhavamos toda a evolução do parazito situado no pêlo e pudemos ver a continuidade do micelio pilar com o micelio que formava a pequena colonia glutinoza.

O micelio destas colonias escuras é perfeitamente igual ao visto, ao redor do pêlo; a côr, a segmentação são as mesmas e ao experimentador mais septico um exame um pouco detido de um nodulo piedrico em inicio de crecimento e o de

nous donnèrent toujours les colonies gluantes et foncées.

J'ai observé comme coincidence digne d'être notée et expliquant peut-être ce fait, que les nodules de mon second cas et ceux du septième du professeur Gonçalo Moniz étaient extrêmement riches en kystes.

Dans les nodules de *piedra* des cas de Rabello qui donnèrent des colonies égales à celles de Juhel-Renoy, le nombre des kystes était assez inférieur à celui, constaté dans les cas que je viens de citer.

Ainsi l'importance de ces colonies pigmentés me paraissait capitale, d'autant plus que le pigment était parfaitement égal à celui des nodules de *piedra* et la dureté exactement la même.

Je résolus alors d'étudier le développement de ces cultures et j'adoptai un procès qui me donna les meilleurs résultats; au lieu de faire des gouttes pendantes, selon la technique de Sabouraud, je plaçai les nodules dans des ballons contenant son milieu de culture et, à mesure que les cultures se développaient, je retirai avec une spatule de platine les colonies entières et les étudiai en préparation fraîches, dans des conditions beaucoup meilleures que dans les gouttes pendantes, où le milieu est très réduit et les chances de contamination par des champignons étrangers sont extrêmement nombreuses. La résistance des colonies simplifiait encore le procès, parce qu'en l'écrasant entre lame et lamelle, sans ou avec de la solution de potasse, tout l'agar qui par hasard adhérait encore, se détachait et l'étude put ainsi être faite dans les meilleures conditions.

Avec cette technique je suivais toute l'évolution du parasite, situé sur le cheveu, en observant la continuité du mycélium pilaire avec celui de la petite colonie gluante.

Le mycélium de ces petites colonies foncées était parfaitement égal à celui, vu autour du poil; la couleur et la segmentation sont les mêmes et, même pour l'observateur le plus sceptique, un examen un peu plus demeuré d'un nodule de *piedra* au

uma particula retirada de uma colonia adulta demonstram rapidamente que se trata do mesmo parazito.

Nas figuras 23 e 24, estampa 6, deixamos bem clara a absoluta concordancia dos dois micelios. Ambos tem a mesma espessura, ambos aprezentam segmentação aproximada igual, havendo zonas do micelio da colonia em que se percebe nitidamente o tão discutido mozaico visto no nodulo piedrico. Existe em ambos o mesmo pigmento amarelo-sujo-esverdeado, e a substancia glutinoza dá á colonia de piedra a mesma rezistencia do nodulo de piedra. Quando a cultura tem mais de um mez de crecimento é dificil destacar uma pequena porção sendo mais facil para o exame raspar a parte superior com espatula de platina ; quazi sempre quando se quer retirar uma particula a colonia se destaca toda do meio de cultura.

A figura 23, estampa 6 reprezenta o começo de vejetação de um nodulo piedrico cultivado sobre agar maltozado de Sabouraud ; são perfeitamente viziveis nela duas zonas bem distintas : a primeira, mais escura, é constituida pelo mozaico miceliano superposto a uma pequena zona do cabelo e seus carateristicos são os mesmos que existem em todas as piedras descritas até agora ; a segunda, zona de crecimento cultural, mostra a continuidade e correspondencia entre a massa criptogamica orijinal e a massa de vejetação subsequente. A perfeita constituição das hifas micelianas é evidente. Em certas zonas ha um tal intrincamento do aparelho vejetativo que se reconstitue, perfeito, o mozaico observado nos cabelos.

Nas ramificações micelianas mais distais são bem destacaveis conidios externos e clomidosporios intercalares. Em todo o micelio se percebe a existencia de membrana, separada por estreita zona clara do plasma interno. Aspeto bem identico é o da figura 24, estampa 6 em que se encontra um pequeno fragmento retirado de colonia adulta, com 1 mez de dezenvolvimento, mostrando hifas com a mesma dispozição e morfolojia que as da figura 23 ;

commencent de son dévelopement et d'une particule de colonie adulte montre très vite qu'il s'agit du même parasite.

Dans les figures 23 et 24 nous montrons clairement la ressemblance parfaite des deux mycéliums. Tous les deux ont la même grosseur et montrent une segmentation à-peu-près égale et dans le mycélium de la colonie on trouve aussi la mosaïque, si souvent citée, qu'on observe dans le nodule. Tous les deux montrent la même pigmentation jaune verdâtre sale et la matière gluante donne à la colonie la même résistance qu'on observe pour les nodules. Quant la culture est agée de plus d'un mois, il devient difficile, de détacher un petit fragment ; c'est alors plus facile, de gratter la surface de la culture avec une spatule de platine, afin d'obtenir les matériaux nécessaires pour l'examen ; si l'on cherche à enlever une partie presque toujours toute la colonie se détache.

La figure 23 reproduit le commencement de la végétation d'un nodule sur le milieu de Sabouraud ; on observe parfaitement deux zones bien distinctes : la première, plus foncée, est formée par la mosaïque mycélienne, surposée, à une petite zone du cheveu et ses caractères correspondent parfaitement à ceux de tous les cas de piedra décrits jusqu'aujourd'hui ; l'autre, formée par la zone de croissance culturale, montre la continuité et correspondance entre la masse cryptogamique primitive et la végétation suivante. Leur formation par hyphes mycéliennes est tout à fait évidente. Dans certaines zones il y a un tel enchevêtrement de l'appareil végétatif, qu'il représente parfaitement la mosaïque observée sur les cheveux.

Sur les ramifications mycéliennes périphériques on distingue des conidies externes et des chlamydospores intercalaires. Dans tout le mycelium on reconnaît une membrane séparée par une zone claire étroite du plasme intérieur. Un aspect semblable est celui de la figure 24, où l'on voit un petit fragment, tiré d'une colonie adulte, agée d'un mois ; elle montre des hyphes avec la même forme et

tambem são vistos clamidosporios que se podem superpor aos do micelio piedrico existente nos nodulos, assim como conidios externos, em numero elevado.

O exame da cultura não necessita sempre o emprego da potassa ; é suficiente raspar com espatula de platina a superficie da colonia para se obter um abundante material de estudo, que se aprezenta sob a forma de massa pardacento-escura. Colocando-se entre lamina e laminula um pouco desse material se obtem logo aspetos iguais ao da figura 24. Quando se trata pela potassa ou soda um desses fragmentos de colonia e se exerce pequena compressão com uma laminula dá-se a dissociação delle e podem assim ser observados os mesmos corpusculos negros a que nos referimos a propozito do aspeto do parazito no pêlo. Até o prezente ainda não observámos nas culturas de nosso cogumelo os cistos que assinalámos nos nodulos piedricos e que supomos serem formas de reprodução de um ascomiceto ; este fato nada tem de anormal, pois são numerozos os exemplos que a micolojia nos oferece de germens patojenicos, cujas formas de reprodução são apenas encontradas nos tecidos animais ou que só se aprezentam quando ha sofrimento do parazito, por insuficiencia de nutrição do meio de cultura. O crecimento do parazito se faz de modo apenas vejetativo, sendo ainda assunto da maior controversia no momento atual, os fenomenos de sexualidade que intervem na formação dos ascos.

E' possivel, que se tenha de procurar um meio de cultura especial para as tricomicozes, exclusivamente epifitas, cuja biolojia forçozamente não é a mesma que a das outras tricomicozes. Assunto é este de maior relevancia e que, por emquanto, ainda não abordamos.

Nossas culturas são extremes de qualquer germen de natureza microbiana e assim não podemos ratificar a propozição de Charles du Boix em seu recente estudo de um cazo de tricosporia suissa, que atribue a um coco a coloração das colonias do tricosporio e julga necessaria a simbioze

dispositions que celles de la figure 23 ; on voit aussi des chlamydospores qui sont congrues à ceux du mycèle intranodulaire de la *piedra*, ainsi qu'un grand nombre de conidies externes.

L'examen de la culture ne nécessite pas toujours l'emploi de la potasse ; il suffit de gratter la surface de la colonie avec une spatule de platine, pour obtenir des matériaux abondants d'étude sous forme d'une masse brun foncé, qui, examinée en préparation microscopique, donne une image pareille à celle de la figure 24. Si l'on traite un de ces fragments de culture avec de la potasse ou de la soude, en exerçant un peu de pression avec une lamelle, on obtient la dissociation et on observe alors les mêmes corpuscules noirs, cités dans la description du parasite dans le cheveu. Je n'ai pas encore observé, dans les cultures de notre champignon, les kystes, signalés dans les nodules de *piedra* et supposés formes de reproduction d'un ascomycète ; ceci n'a rien d'extraordinaire, puisque la mycologie offre de nombreux exemples de germes pathogènes, où les formes de reproduction sont seulement rencontrées dans les tissus animaux ou qui montrent dans les cultures seulement des formes de souffrance, dues à l'insuffisance de la nutrition. La croissance du parasite est purement végétative et les phénomènes sexuels, qui précèdent la formation des asques, sont encore l'object de discussion et de doute.

C'est possible qu'il faudra chercher un milieu de culture spécial pour les trichomycoses de nature purement épiphytique et dont la biologie naturellement est différente de celle des autres trichomycoses. Je ne veux pas aborder maintenant ce sujet qui est de la plus haute importance.

Nos cultures sont livres de tout germe de nature bactérienne et ainsi je n'ai pu confirmer l'idée de Charles du Boix, exposée dans une étude récente sur un cas de trichosporie suisse, qui attribue à un coccus la coloration des colonies de trichosporon et considère nécessaire la symbiose

do coco e do tricosporio para a produção da ganga rezistente constituida pela substancia amorfa que empresta a dureza ao nodulo piedrico e ás culturas do mesmo.

A coloração das nossas culturas sofre a influencia da idade do seu dezenvolvimento e a luz do ambiente. Conservado no escuro ou exposto á luz, o pigmento não aprezenta o mesmo matiz. Esses diversos matizes são muito bem apreciaveis nas quatro colonias reproduzidas nas figuras 2, 3, 4 e 5, estampa 5. O dezenvolvimento da cultura é extraordinariamente lento e a menor colonia que aí aprezentamos tinha 8 dias de dezenvolvimento, na temperatura do ambiente; ao redor della vê-se a côr escura do meio maltozado de Sabouraud e a colonia possue uma côr esverdeada perfeitamente apreciavel, de envolta com lijeiros tons amarelados. Circular, tem os bordos, apezar de regulares, formados por delgada franja constituida pela zona de crecimento miceliano. E' um pouco acuminada, não a modo do *tricophyton acuminatum*, mas com pequenas elevações juxtapostas de côr amarelada; já existe aí um lijeiro inicio dos sulcos que se verão profundos e nitidos nas fazes seguintes. Com 15 dias de dezenvolvimento a colonia triplica de volume e sua forma já se estabelece de modo carateristico; a sua proeminencia sobre o meio de cultura já é notavel e do centro partem depressões que se terminam na periferia. Estas depressões têm côr mais escura que o resto da colonia, que aprezenta uma borda periferica com o mesmo colorido com um tom mais claro; dos bordos, bem regulares, se vêm partir pequeninos filamentos, constituindo finissima e curta franja. Na colonia são perceptiveis zonas consecutivas de varias tonalidades, sendo a côr geral aproximada do amarelo verdoengo; no centro são vistos os mesmos pequenos cumulos de côr amarelada mais clara, já mencionados nas fazes anteriores.

Daí em diante a colonia tende a tomar côr mais escura, principalmente se fôr conservada em ambiente menos iluminado, como acontece com a colonia 3, de 17 dias

du coccus et du trichosporon pour la production de la gangue résistante, formée par la substance amorphe à laquelle le nodule de piedra et ses cultures doivent leur consistance dure.

Dans nos cultures la couleur dépend de l'âge et de la lumière. Elle n'a pas la même nuance quand on conserve la culture dans l'obscurité et quand on l'expose à la lumière. On peut parfaitement apprécier les différentes nuances dans les quatre colonies, reproduites dans les figures 2—5. Le développement des cultures est extrêmement lent et la moindre des colonies représentées avait 8 jours de développement à la température ordinaire; autour d'elle on voit la couleur foncée du milieu maltosé de Sabouraud et la colonie est d'une couleur verdâtre bien appréciable, entourée de légères nuances jaunâtres. Elle est parfaitement ronde, à bords réguliers, entourés par une bordure délicate, due à la zone d'expansion du mycèle. Elle est un peu acuminée, pas à la manière du *trichophyton acuminatum*, mais dû à de petites élévations juxtaposées, de couleur jaune; on note déjà un léger commencement des sillons qui deviendront nets et profonds dans les phases suivantes. Avec 15 jours de développement la colonie augmente trois fois en volume et sa forme s'établit déjà d'une manière caractéristique; son élévation sur le milieu de culture s'impose déjà et de son centre partent des dépressions qui atteignent la périphérie. Ces depressions sont de contour plus foncé que le reste de la colonie, qui montre le bord périphérique de la même couleur, avec une nuance plus claire; de ses bords très réguliers on voit partir de petits filaments, formant une bordure courte et très délicate. Sur la colonie on perçoit des zones consécutives de nuances variées, se rapprochant généralement du jaune verdâtre; au centre on voit ces élévations jaunâtres, déjà mentionnées pour les phases antérieures.

À partir de ce moment la colonie montre une tendence à prendre une teinte plus foncée, principalement, si elle est conservée dans un ambiant peu éclairé, comme

de dezenvolvimento, em que predomina o matiz castanho-escuro.

A figura 5 reprezenta uma colonia com 4 mezes de dezenvolvimento e as variadas zonas de coloração são aí bem acentuadas; é curiozo notar a aproximação que existe entre a tonalidade geral desta colonia e a dos nodulos piedricos reprezentadas em nossa figura n. 1, estampa 5. Devemos notar que nos nodulos piedricos essas diversidades de tons que vimos assinalando nas colonias tambem existem, havendo-as mais claras e mais escuras.

Com o crecimento da colonia escura a dureza vae se tornando cada vez maior e só pela raspajem da superficie externa della se pode bem estudar a sua constituição ou pela dissociação com a potassa de qualquer fragmento que, com dificuldade, se consiga retirar da periferia. Para este ultimo fim é necessario cortar a colonia com finas espatulas de platina, sendo este o processo de que nos servimos quando retirámos partes de colonias para incluzões e estudo em cortes.

Nas culturas mais velhas encontrámos algumas hifas recurvadas com pequenas ramificações paralelas, situadas no lado convexo e que podem sei comparadas aos organs petinicos descriptos em alguns parazitos de tinhas; reprezentamos um desses aspetos, sem comtudo afirmar definitivamente que se trate de forma de reprodução do parazito (Est. 6, Fig. 26)

Com o metodo que adotámos para o estudo do crecimento dos nodulos piedricos cnseguimos surpreender a vejetação dos elementos fuziformes, vendo-se de suas extremidades a saida de um micelio septado e que tem o aspeto do micelio do parazito, notando-se apenas sua menor espessura. Esperamos conseguir obter cortes dos nodulos piedricos em inicio de vejetação para melhor acompanharmos o crecimento desses interessantes corpos fuziformes. Não se pode negar a semelhança que existe entre o crecimento desses elementos e o dos fuzos pluriseptados, especialmente dos microsporios; de fato, estes, quando cultivados em gotas pendentes, aprezentam

cela se voit dans la colonie 3, âgée de 17 jours, où la nuance prédominante est brun foncé.

La figure 5 représente une colonie, âgée de 4 mois, avec des zones de coloration différente bien accentuées; c'est intéressant de remarquer la ressemblance qu'il y a entre le ton général de cette colonie et celui des nodules de *piedra*, représentés dans la figure 1. Il faut remarquer que ses différences de ton que nous avons signalées pour les colonies, existent aussi dans les nodules de *piedra*, où il y en a de plus clairs et de plus foncés.

Pendant la croissance de la colonie sa dureté devient toujours plus grande et ce n'est qu'en grattant sa surface externe, qu'on peut étudier sa formation ou alors en dissociant dans de la potasse quelque fragment qu'on a détâché avec difficulté de sa périphérie. Dans le dernier cas il faut entamer la colonie avec des spatules de platine fines, procès que nous suivons aussi pour enlever des fragments de la colonie pour l'inclusion et l'étude en coupes.

Dans les cultures plus anciennes on trouve quelques hyphes recourbées, à petites ramifications parallèles, situées du côté convexe et que l'on peut comparer aux organes pectinés, décrits chez quelques champignons de teignes; je reproduis une de ces formes, sans toutefois affirmer qu'il se traite d'une forme de reproduction du parasite.

Avec la méthode que j'employais pour l'étude de la croissance des nodules de *piedra*, j'ai réussi à surprendre la germination des corps fusiformes, en voyant partir des extrémités un mycèle septé, pareil à celui du parasite et se distinguant seulement par sa grossesse moindre. J'espère obtenir des coupes de nodules de *piedra* au commencement de leur végétation, pour accompagner mieux la croissance de ces corps fusiformes. On ne peut nier la ressemblance de la germination de ces éléments et de celle des fuseaux à cloisons, surtout observés chez les microscoporons; en effet ceux-ci, à la culture en goutte pen-

rapidamente vejetação miceliana em suas extremidades.

Vem aqui a pelo mencionar uma pequena nota comparativa entre a colonia, ora descrita e as que tem o aspeto vermiforme, encontradas por JUHEL-RENOY. Nas culturas do nosso primeiro cazo obtivemos algumas dessas colonias e tambem RABELLO as obteve em seus dois cazos, sempre muito raras em relação ás colonias escuras. Tivemos uma otima cultura para comparação com as nossas, trazida pelo Dr. FIGUEIREDO VASCONCELLOS, da micotéca de SABOURAUD. Não ha diferença sensivel entre as culturas vermiformes brazileiras e a cultura da coleção SABOURAUD, que tem o rotulo de « Piedra Nantes ». Não existe o menor ponto de identidade entre a coloração, rezistencia e aspeto dessa colonia com a nossa cultura; a côr se aproxima um pouco da côr das culturas de *Achorion Schoenleini* e o aspeto vermiforme é quazi identico ao da cultura de hifo-blastomicoze de LUTZ. Na periferia ha uma zona esbranquiçada, que, ás vezes, se estende até o centro da cultura; esta é mole e facilmente destacavel com um fio de platina. Microscopicamente vê-se o micelio, pouco largo, septado e que se fragmenta em pequenos articulos com 2 ou 3 septos. Entre o micelio, esparsos irregularmente, ás vezes em grandes massas, outras vezes em pequeno numero, os esporios grandes e arredondados são sempre vistos.

As hifas micelianas revestidas por uma membrana fina e o plasma sem coloração especial, tornam a cultura comparavel a grande numero de cogumelos banais, facilmente cultivaveis entre os existentes no ar do ambiente. Não existindo a substancia amorfa e glutinoza intercalar ao micelio continuo e sem clamidosporios é claro que a isso se deve a pouca rezistencia da cultura.

Não é possivel estabelecer o menor confronto entre o cogumelo existente nos pelos piedricos e o cultivado nas culturas vermiformes iguais ás de JUHEL-RENOY.

dante, montrent rapidement une végétation mycélienne à ses deux extrémités.

Il convient de faire ici une comparaison rapide entre les colonies que nous venons de décrire, et les autres, rencontrées par JUHEL-RENOY, à aspect vermiforme. Dans les cultures de mon premier cas j'ai obtenu quelques-unes de ces colonies et RABELLO aussi les obtint en deux de ces cas, mais elles étaient toujours rares en relation aux colonies foncées. J'ai une excellente culture pour comparer avec les miennes, qui a été rapportée par le Dr. FIGUEIREDO VASCONCELLOS de la *mycotica* de SABOURAUD. Il n'y a pas de différence appréciable entre les cultures vermiformes brésiliennes et la culture de la collection SABOURAUD, étiquettée « *Piedra nantes* ». Ces colonies n'ont pas la moindre ressemblance dans l'aspect, la couleur et la résistance avec nos cultures décrites; leur nuance se rapproche un peu de celle du *Achorion Schoenleini* et leur aspect est très semblable à celui des cultures de l'*hypho-blastomycose* de LUTZ. Á la périphérie, il y a une zone blanchâtre qui s'étend quelquefois jusqu'au centre de la culture; celle-ci est molle et se détâche facilement avec un fil de platine. Au microscope on voit le mycèle septé assez fin, se fragmentant en petits articles à 2 ou 3 cloisons. On voit toujours des spores grandes et arrondies, irregulièrement distribuées entre le mycèle, parfois en petit nombre et parfois en grandes masses.

Les hyphes mycéliennes, revêtues d'une membrane fine et à plasma incolore, permettent de comparer cette culture avec un grand nombre de champignons banales et facilement cultivables qui se trouvent dans l'air ambiant. Le manque de substance amorphe et gluante entre le mycèle, ainsi que des chlamydospores, explique le défaut de résistance des cultures.

Citolojia do cogumelo da piedra:

Pelo exame a fresco do parazito nos cabelos não pudemos tirar a menor ilação acerca de sua contextura intima ; os nodulos piedricos incluidos em parafina mostraram-se muito friaveis e os nodulos, dissociados pela potassa e córados, apoz lavajem pela agua não nos deram preparações dignas de menção.

Recorremos então, para estudo da fina estrutura do parazito, á incluzão em parafina e córtes da cultura. Para esse fim retiravamos a cultura do meio de SABOURAUD e a fixavamos na solução de sublimado-alcool de SCHAUDINN, seguindo depois a tecnica aconselhada por GIEMSA. Os córtes foram gentilmente feitas pelo Dr. GASPAR VIANNA, a quem agradecemos essa fineza, e córados pela solução de GIEMSA.

Os rezultados obtidos foram bastante satisfatorios e nos parece que o metodo de GIEMSA com fixação no sublimado-alcool é um bom meio de estudar a cytologia dos cogumelos.

Como simples menção, não podemos deixar de dizer que no estudo dos lêvedos a fixação a fresco pelo sublimado-alcool e consecutiva coloração pela solução de GIEMSA dá magnificas preparações permitindo encontrar aspetos citolojicos tão belos, como não vimos ainda com qualquer outro processo. Neste cazo, é precizo, sómente, retirar o sublimado ou pela lavajem um pouco demorada em agua corrente ou pelo emprego do alcool iodado. Assim, no estudo dos lêvedos, pode-se ter um bom preparado em 2 horas.

Alguns dos aspetos obtidos nos córtes das culturas são reproduzidos nas figs. 27 a 34 da Estampa 6.

A estrutura do micelio cultural fica perfeitamente esclarecida ; mas não nos sentimos com autoridade suficiente para afirmar definitivamente qual será a interpretação correta dos aspetos citolojicos encontrados ; devemos, comtudo, como subsidio para os mais competentes, explicar a maneira porque seria possivel estabelecer

Cytologie du champignon de la piedra.

L'examen â frais du parasite dans les cheveux ne nous permit pas de tirer la moindre conclusion sur sa structure intime ; les nodules inclus dans la paraffine sont très friables et, dissociés dans la potasse et colorés après lavage à l'eau, ils ne donnèrent que des préparations peu satisfaisantes.

Je me servis alors de cultures, coupées après inclusion dans la paraffine. Pour cela je retirai les cultures du milieu de SABOURAUD et je les fixai dans la solution de sublimé et alcohol selon SCHAUDINN, en suivant après la technique de GIEMSA. Les coupes furent faites par le Dr. GASPAR VIANNA, à qui je suis très obligé pour ce service.

Les résultats obtenus par la coloration selon GIEMSA, sont assez satisfaisants et la méthode décrite me parait très applicable à l'étude cytologique des champignons.

(Je ne puis ici m'empêcher de signaler rapidement le fait que, dans l'étude des levûres, la fixation à frais au sublimé-alcohol, suivie de coloration par la méthode de GIEMSA, donne des préparations excellentes qui permettent de trouver des images cytologiques tellement belles, comme je ne les ai pas encore vues avec d'autres procès. Dans ce cas il faut seulement se débarraser du sublimé, soit par le lavage soigneux à l'eau, soit par l'usage de l'alcohol iodé. On peut obtenir ainsi en deux heures une bonne préparation pour l'étude des levûres).

Quelques-unes des images, obtenues par les coupes des cultures, sont reproduites dans la planche 6, fig. 27 à 34.

La structure du mycèle devient parfaitement claire, mais je ne me sens pas suffisament autorisé, pour me prononcer définitivement sur l'explication correcte des images cytologiques ; il me faut pourtant, comme contribution pour des juges plus compétents, exposer la manière, par laquelle on pourrait établir une suite logique pour ces figures si intéressantes.

uma seriação lojica nessas figuras interessantissimas.

A existencia de uma membrana fica perfeitamente evidente, assim como se observam facilmente que os septos do cogumelo são muito aproximados e parecem ser da mesma natureza que a membrana peripherica. Entre esta e o protoplasma celular existe uma zona clara, que se não córa, contrastando assim com o protoplasma homojeneo córado em violeta palida. No interior do protoplasma encontrámos, quazi sempre colocada lateralmente, uma massa espherica intensamente córada em vermelho, circundada por orla incolor; essa massa vermelha tem todas as aparencias de um tipico nucleo com cariozoma e zona de suco nuclear.

Aspetos, como o ora descripto, são vistos principalmente nas zonas, em que o crecimento do cogumelo não é activo, porque, naquellas em que elle está em franca vejetação parece existir um intenso processo de divizão nuclear. Nestas zonas a segmentação das hifas é maior e, no interior do protoplasma dos pequenos articulos micelianos vimos varios corpusculos cromaticos, que, encarados como nucleos, deveriam ser interpretados como em processo ativo de divizão.

Ha aspetos que convidam á admitir duas modalidades de divizão: uma homopolar e a outra hetero-polar.

Como figuras demonstrativas do primeiro processo de mitoze temos na parte inferior da figura 28 estampa 6 um nucleo em que se vêm dois pequenos granulos cromaticos nas extremidades de um fino filamento da mesma natureza. notando-se no centro uma grande massa cromatica formando uma nitida placa equatorial; na figura 29 já estão as duas metades do cariozoma dispostas nas extremidades de um pequeno filamento axial, em faze, portanto, muito adiantada de divizão. Pela divizão homopolar seria muito facil explicar a prezença de muitos nucleos no mesmo segmento miceliano, admitindo-se uma serie de divizões consecutivas; a dispozição dos nucleos autorizaria esta interpretação, sendo dificil

L'existence d'une membrane est parfaitement claire, comme on observe facilement, que les cloisons de ce champignon sont trés rapprochés et paraissent être de la même nature que la membrane périphérique. Entre celle-ci et le protoplasme cellulaire il y a une zone claire qui ne se colore pas, contrastant ainsi avec le protoplasme homogène coloré en violet pâle. Á l'intérieur de ce protoplasme et, presque toujours, d'un côté, on trouve une masse sphérique de couleur rouge intense, entourée d'une zone incolore; cette masse rouge a tout-à-fait l'apparence d'un noyan typique à caryosome et zone de suc nucléaire.

Les aspects que nous venons de décrire, se trouvent principalement dans les zones, où la croissance du champignon n'est pas active, parce que là, où il est en pleine végétation,il parait y avoir un procès intense de division nucléaire. Dans ces zones la segmentation des hyphes est plus accusée et à l'intérieur du protoplasme des petits segments mycéliens j'ai observé plusieurs granulations chromatiques que l'on peut considérer comme des noyaux cellulaires, alors en procès actif de division.

Il y a des images qui engagent à admettre deux formes de division, dont une homopolaire et l'autre heteropolaire.

Comme illustration de la première forme de mitose nous avons, dans la figure 28 en bas, un noyau dans lequel on voit deux petites granulations chromatiques, aux deux bouts d'un filament de la même nature, tandis qu'au centre il y a une grande masse chromatique, formant une plaque équatoriale nette; dans la figure 29 on trouve les deux moitiés du caryozome, déjà disposées aux deux extrémités d'un petit filament axial, par conséquence en état très avancé de division. La présence de noyaux nombreux dans le même segment mycélien s'expliquerait facilement par la division homopolaire, en admettant une série de divisions consécutives et la disposition des noyaux autorise cette interpré-

compreender de outro modo o paralelismo dos nucleos, como se observa, por exemplo, na figura 30, estampa 6.

O outro processo de divizão, o heteropolar, caraterizaria os aspetos que se observam frequentemente nos preparados córados pelo GIEMSA, como na figura 31, em que se vê um delgado filamento emerjindo do cariozoma e tendo na extremidade uma massa cromatica bem acentuada. Este aspeto é bastante comum, como o de 2 e 3 massas cromaticas de volume dezigual, unidas por um pequeno filamento.

Conforme deixámos escrito anteriormente, não estamos absolutamente convencidos da exatidão dessas explanações sobre o processo de devizão nuclear neste cogumelo; o assunto, pela sua importancia, merece maior atenção, principalmente no momento que atravessa a micolojia, numa faze brilhante de investigações sobre a estrutura dos nucleos dos bolores.

CONCLUZÕES

Do estudo feito e acima exposto julgamos poder tirar as seguintes conclusões:

1. Existe no Brazil uma forma de Piedra, isto é, uma afeção nodular dos cabelos, produzida por um cogumelo.
2. Os nodulos, escuros e aderentes ao cabelo, são formados por um cogumelo constituido por hifas septadas e que se dicotomizam; no interior do micelio existem em grande numero corpusculos, de forma variadas, como cistos em diversas fazes de evolução e elementos fuziformes ciliados, corpusculos que não existem nas outras formas de Piedra, já conhecidas.
3. A cultura deste cogumelo, em meio de SABOURAUD, produziu colonias escuras e rezistentes, providas de um pigmento identico ao observado no nodulo piedrico e com a mesma substancia glutinoza, que produz a rezistencia delle.
4. O aspeto do micelio do cogumelo por nós cultivado é o mesmo que o do micelio existente no nodulo piedrico.

tation, parce qu'il serait difficile d'expliquer autrement le parallèlisme des noyaux, observé par exemple dans la figure 30.

Le second mode de division, par procès hétéropolaire, se caractérise par les images, observés fréquemment dans les préparations colorées selon GIEMSA, par exemple dans la figure 31, où l'on voit un filament fin, partant du caryosome et portant à son extrémité une masse chromatique bien accentuée. Cet aspect est assez commun, comme aussi celui de 2 ou 3 masses chromatiques de volume inégal, réunies par un petit filament.

Comme j'ai déjà déclaré, je ne suis pas absolument convaincu de l'exactitude de ces explications du procès de division du champignon; la question est importante et mérite d'autant plus d'attention que la mycologie passe en ce moment par une phase brillante de recherches sur la structure nucléaire des moisissures.

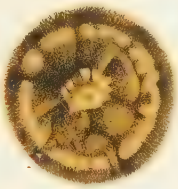
CONCLUSIONS.

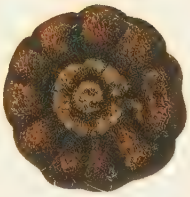
Des études que je viens d'exposer, je crois pouvoir tirer les conclusions suivantes:

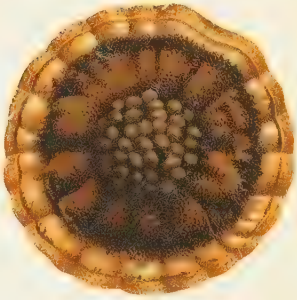
1. Au Brésil existe une forme de *piedra*, c'est-à-dire une affection nodulaire des cheveux, produite par un champignon.
2. Ces nodules, foncés et adhérents aux cheveux, sont formés par un champignon à hyphes cloisonnées et dichotomes; à l'intérieur du mycèle, il y a un grand nombre de corpuscules kystiques de forme variée et en diverses périodes de développement, contenant des éléments fusiformes ciliés qui n'existent pas dans les autres formes décrites de *piedra*.
3. La culture de ce champignon en milieu de SABOURAUD produit des colonies foncées et résistantes, à pigment égal à celui que l'on observe dans les nodules de la *piedra*.
4. L'aspect du mycèle du champignon que j'ai cultivé, est le même que celui du mycèle formant le nodule de *piedra*.

1

2


3


4


5

7

8

9

10

11

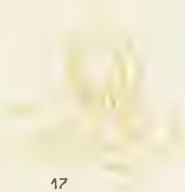
12

13

14

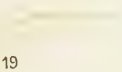
15

16


17

18

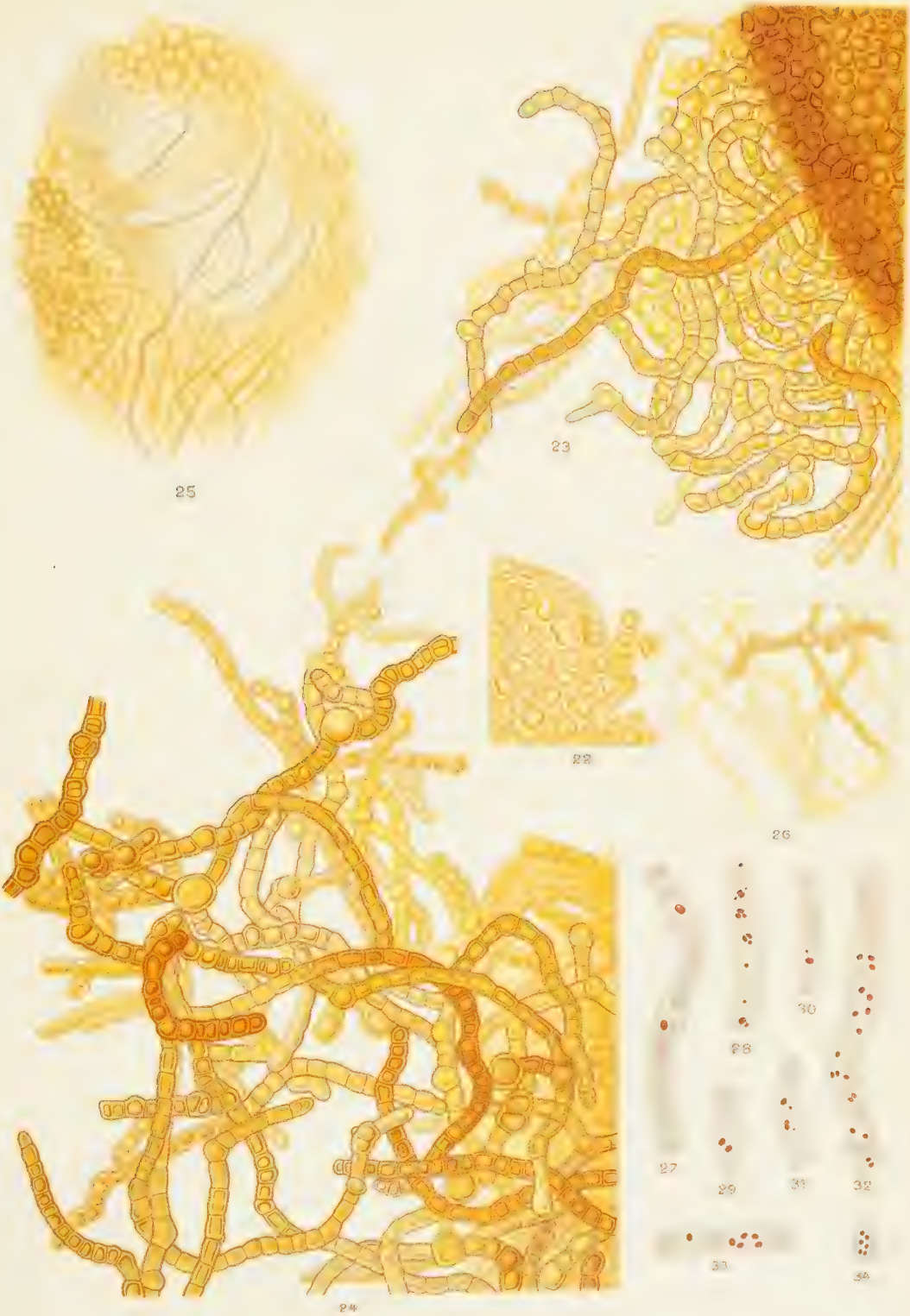
6


19

20

21

CastroSilva.del.



CastroSilva del.

5. Quer no nodulo piedrico, quer nas culturas, nunca verificámos a prezença de cocos e bastonetes, descritos por varios autores nas outras Piedras.

6. Por todos esses motivos julgamos existir no Brazil uma forma de Piedra, não confundivel nem com a Piedra colombiana, nem com a Piedra *nostras*, européa.

Manguinhos, Janeiro de 1911.

5. Je n'ai jamais constaté, ni dans le nodule de *piedra*, ni dans les cultures, la présence des coccus et bâtonnets, décrits par différents auteurs dans les autres formes de *piedra*.

6. Par toutes ces raisons je crois qu'au Brésil il y a une forme de *piedra* qui ne se confond ni avec la *piedra* de la Colombie, ni avec la *piedra nostras* d'Europe.

Manguinhos, Janvier 1911.

EXPLICAÇÃO DAS ESTAMPAS.

ESTAMPA 5.

Fig.
1. — Cabello piedrico. Oc. 1, Obj. 16 mm. opochr. Zeiss.
2. — Cultura de 8 dias em meio de SABOURAUD.
3. — Cultura de 17 dias em meio de SABOURAUD.
4. — Cultura de 30 dias em meio de SABOURAUD.
5. — Cultura de 4 mezes em meio de SABOURAUD.
6. — Pequena saliencia piedrica, sem dissociação pela potassa. Obj. 4 mm., apochr. Zeiss Oc. 2.
7. — Nodulo piedrico dissociado pela potassa. — Piedra, CONÇALO MONIZ. Obj. 4 mm., apochr. Zeiss Oc. 3.
8 a 21. — Evolução dos cistos no interior dos nodulos piedricos. Obj. 4 mm., apochr. Zeiss Oc. 3.

ESTAMPA 6.

Fig.
22. — Fragmento de cultura. — Oc. 5, comp. Obj. 4 mm., apochr. Zeiss.
23. — Cultura de 12 dias de um nodulo piedrico em meio de SABOURAUD. — Obj. 4 mm. apochr. Zeiss, Oc. 3.
24. — Fragmento de cultura, dissociado pela potassa. — Obj. 4 mm. apochr., Oc. comp. 3.
25. — Crescimento das formações cisticas em meio de SABOURAUD. — Obj. 4 mm. apochr., Oc. comp. 3.
26. — Formações semelhantes a organs petinicos nas culturas de piedra. — Oc. 4 comp. Obj. apochr., 4 mm. Zeiss.
27 a 34. — Aspetos citolojicos em cortes de cultura de piedra, coloração pelo GIEMSA. — Oc. 5 comp. Obj. 2 mm. imm. Zeiss.

EXPLICATION DES PLANCHES.

PLANCHE 5.

Fig.
1. — Cheveu avec la Piedra. — Oc. 1, Obj. 16 mm., apochr. Zeiss.
2. — Culture de 8 jours en milieu de SABOURAUD.
3. — Culture de 17 jours en milieu de SABOURAUD.
4. — Culture de 30 jours en milieu de SABOURAUD.
5. — Culture de 4 mois en milieu de SABOURAUD.
6. — Petite saillie piedrique, sans dissociation avec la solution de potasse. — Obj. 4 mm., apochr. Zeiss, Oc. 2.
7. — Nodule piedrique dissocié par la potasse. Piedra GONÇALO MONIZ. — Obj. 4 mm., apochr. Zeiss, Oc. 3.
8 a 21. — Évolution des cystes dans l'interieur des nodules piedriques. — Obj. 4 mm., apochr. Zeiss, Oc. 3

PLANCHE 6.

22. — Fragment de culture. — Oc. 5 comp. Obj. 4 mm. apochr. Zeiss.
23. — Culture de 12 jours d'un nodule piedrique en milieu de SABOURAUD. — Obj. 4 mm., apochr. Zeiss, Oc. 3.
24. — Morceau de culture, dissocié par la potasse. — Obj. 4 mm., apochr., Oc. comp. 3.
25. — Croissance des formations quistiques en milieu de SABOURAUD. — Obj. 4 mm., apochr, Oc. comp. 3.
26. — Formations semblables à des organes pectinés dans les cultures de Piedra. — Oc. 4 comp. Obj. 4 mm , apochr. Zeiss.
27 a 34. — Aspects citologiques dans les coupes de culture de Piedra, coloration par le GIEMSA. — Oc. 5 bomp. Obj. 2 mm. imm. Zeiss.

BIBLIOGRAFIA

Behrend	1890	Ueber Trichomycosis nodosa (Juhel-Renoy), Piedra (Osorio). Berl. klin. Wochenschr. 26 Mai.
Behrend	1890	Demonstration von Präparaten über Trichomycosis nodosa. Berl. dermat. Verein. 12 Juli 1890.
Beigel	1865	Sitzungsber. der math. naturwiss. Klasse der Wiener Akad. der Wissenschaften XVII.
Beigel	1869	The human hair. — London.
Bois, Charles du	1910	Étude d'un cas de trichosporie. Ann. de Dermatologie & de Syphiligraphie N. 8—9. Août—septembre.
Creadle & Malcolm-Morris ...	1879	Trichorrhexis nodosa, piedra, tinea nodosa. The Lancet.
Desenne	1878	Sur la piedra, nouvelle espèce d'affection parasitaire des cheveux. C. R. de l'Acad. des Sciences. 1.er juillet.
Eberth	1873	Centralbl. f. med. Wiss. VI.
Godinho, Victor	1906	Um caso de Piedra. Rev. Med. d. S. Paulo. N. 8. 30 de Abril.
Juhel-Renoy	1888	De la piedra. C. R. de la Société de Biologie. 1.er décembre.
Juhel-Renoy	1888	De la trichomycose nodulaire. Ann. de dermatologie et syph. IX. 25 décembre.
Juhel-Renoy & Lyon	1890	Recherches histo-biologiques et étiologiques sur la trichomycose nodulaire. Ann. de dermatologie XI.
Knoch	1866	Journal des russ. Kriegsdepartements XCV.
Lindemann	1867	Oesterreichische Zeitschrift für praktische Heilkunde. XIII.
Magalhães, P. S. de	1901	Um caso autochtone de Piedra. Rev. Med. d. S. Paulo. N. 9. 15 de Maio, p. 143.
Magalhães, P. S. de	1906	Um novo caso autochtone de Piedra. Rev. Med. de S. Paulo, 30 de Março, N. 6, p. 105.
Migula	1900	System der Bakterien.
Moniz, Gonçalo & Valladares, Prado .	1907	A Piedra na Bahia. Communicação ao 6.° Congresso Brasileiro de Medicina e Cirurgia de S. Paulo.
Patterson, R.	1890	Trichomycosis nodosa. British Journ. of dermatology. April.
Posada, Arango	1888	La trichomycosis nodular. Anales de l'Academia de Medicina de Medellia. Maio.
Rabello, Eduardo ..	1909	Estado actual dos nossos conhecimentos sobre as dermatomycosis. Relatorio ao 4.° Congresso Medico-Latino-Americano. Rio de Janeiro.
Rabenhorst	1867	Zwei Parasiten in den Haaren der Chignous, Hedwigia.
Schaechter	1901	De la trichosporie (piedra nostras e piedra columbica). Thèse de Médecine. Nancy, 30 juillet.
Schroeter	1886	Kryptogamenflora von Schlesien.
Traechsler	1896	Ueber die feineren Unterschiede zweier Fälle von Piedra nostras. Monatshefte für prakt. Dermatologie.

Trevisan	1889	Sylloge fungorum de Saccardo.
Unna	1895	Ueber Piedra nostras. Deut. Medicin. Zeitung.
Unna	1895	Zwei Fälle von Piedra nostras. Naturforscherversammlung, Lübeck, Sept. 1895. Georg Lewin's Festschrift, 1896.
Vuillemin, P.	1901	Un cas de trichosporie (piedra nostras) observé en France. C. R. de l'Acad. des Sciences. 3 juin, 1901.
Vuillemin, P.	1902	Trichosporum et Trichospories. Archives de Parasitologie, 1902.

Pesquizas citolojicas sobre o Trypanozoma rotatorium GRUBY

POR

Astrogildo Machado.

(Com as estampas 7 e 8.)

Zytologische Untersuchungen ueber Trypanosoma rotatorium GRUBY

VON

Astrogildo Machado.

(Mit Tafel 7 und 8.)

I. INTRODUÇÃO.

MATERIAL E TECNICA.

As rãs (*Leptodactylus ocellatus*) existentes nos arredores de MANGUINHOS aprezentam-se frequentemente parazitadas pelo *Trypanozoma rotatorium*. Em regra, oferecem um gráo de infeção mais intenso, quando jovens.

Ao lado do tripanozomo, encontram-se raramente hemogregarinas.

Examinando, em preparações córadas, o sangue de algumas destas rãs, encontrámos aspetos interessantes do tripanozomo, pelo que rezolvemos fazer algumas pesquizas, no intento de elucidar pontos ainda obscuros na biolojia deste protozoario.

Nossos estudos limitam-se apenas á citolojia do parazito no sangue do vertebrado, visto como não nos foi possivel obter rezultados seguros sobre a transmissão delle pelos hirudineos. A este capitulo de transmissibilidade voltaremos, quando

I. EINLEITUNG.

MATERIAL UND TECHNIK.

Die Frösche der Umgebung von MANGUINHOS (*Leptodactylus ocellatus*) zeigen sich häufig mit *Trypanosoma rotatorium* infiziert und zwar ist die Infektion bei jungen Exemplaren gewöhnlich eine stärkere. Seltener finden sich neben den Trypanosomen auch Hämogregarinen.

Während ich in gefärbten Präparaten das Blut einiger dieser Frösche untersuchte, beobachtete ich interessante Formen dieses Trypanosomas und unternahm deshalb einige Untersuchungen, zum Zwecke der Aufklärung mancher noch dunkler Punkte in der Biologie dieses Protozoen.

Meine Untersuchungen beschränkten sich auf die Zytologie der Parasiten im Blute der Frösche, da es mir nicht gelang, über die Uebertragung durch Hirudineen sichere Aufschlüsse zu gewinnen. Auf dieses Kapitel der Uebertragbarkeit werde ich zurückkommen, wenn ich über ge-

dispuzermos de material propicio a tais pesquizas.

No decorrer destas notas não citaremos todos os trabalhos, que, sobre tripanozomos de rãs, têm sido publicados, porque acreditamos, como é a opinião de DOFLEIN (1910), que muitas das variadas formas encontradas no sangue e descritas como especies diversas, não passam de modalidades morficas do proprio *Trypanosoma rotatorium*.

Para as preparações seguimos a tecnica recomendada por ROSENBUSCH. O sangue, colhido nas patas ou por punção no coração, era estendido em laminulas e fixado a humido no sublimado-alcool de SCHAUDINN. Estas passavam, sucessivamente, conforme o tempo necessario, para alcool a 70°, agua, alumen ferrico, hematoxilina; depois de diferenciadas na solução de alumen eram fechadas em balsamo. Os esfregaços de organs, (figado, baço, rins, e pulmão) foram manipulados pelo mesmo processo. O metodo de GIEMSA, a seco, foi tambem empregado, tanto em preparações de sangue como nos esfregaços de organs, a titulo de comparação. Fizemos grande numero de preparações de quazi todos os organs do animal, sem que ellas tivessem dado rezultado pratico, exceção feita das do baço, do figado e principalmente dos rins.

II. MORPHOLOGIA DO PARAZITO NO ORGANISMO DO VERTEBRADO.

Ao examinarmos este parazito, logo nos impressionam as multiplas variantes, que aprezenta, tanto em dimensões como em forma, pelo que se torna necessario dividil-as em grupos, para bem descrevel-as. Não adotamos aqui a divizão de LAVERAN e MESNIL (1904), nem a de LEBEDEFF (1910), porque é diversa da destes autores a interpretação que damos a tais formas.

Não efetuámos mensurações destes varios elementos porque já são bastante conhecidas e não têm grande importancia,

eignetes Material für solche Studien verfüge.

Bei dieser Mitteilung sehe ich davon ab, sämmtliche über Froschtrypanosomen publizierten Arbeiten anzuführen, weil ich mit DOFLEIN (1910) der Ansicht bin, dass viele der abweichenden Formen, welche im Blute beobachtet und als verschiedene Arten beschrieben wurden, nur morphologisch differente Zuständen desselben *Trypanosoma rotatorium* sind.

Bei Herstellung der Präparate befolgte ich die von ROSENBUSCH empfohlene Technik. Das den Pfoten entnommene oder durch Herzpunktion erhaltene Blut wurde auf Deckgläschen ausgestrichen und feucht mit Sublimatalkohol nach SCHAUDINN fixiert. Letztere kamen nach geeigneten Zeiträumen sukzessive in Alkohol von 70°, Wasser, Eisenalaun, und Hämatoxylin; nach Differenzierung in Alaunlösung wurden sie in Balsam eingeschlossen. Die Organausstriche von Leber, Milz, Nieren und Lungen wurden in derselben Weise behandelt. Zum Zwecke des Vergleiches wurden auch Trockenpräparate von Blut und Organen nach GIEMSA gefärbt. Ich machte von allen Organen der Tiere zahlreiche Präparate, aber, abgesehen von Milz und Leber und ganz besonders Nieren, gaben mir dieselben keine praktischen Resultate.

II. MORPHOLOGIE DER PARASITEN.

Bei Untersuchung der Parasiten fallen sofort zahlreiche Unterschiede in Grösse und Form auf, welche behufs besserer Beschreibung in Gruppen gebracht werden müssen.

Ich adoptiere hier weder die Einteilung von LAVERAN und MESNIL (1904), noch die von LEBEDOFF (1910), weil meine Deutung solcher Formen eine andere ist, als die jener Autoren.

Ich habe keine Messungen dieser verschiedenen Formen gemacht, weil solche schon genügend bekannt und ohne grosse Wichtigkeit sind, da man bei verschiedenen

visto aprezentarem variações em individuos duma mesma forma que se considere.

Dividimos os diferentes aspetos do protozoario observados no organismo da rã, em dois tipos: A) Sexuado, e B) Asexuado.

O primeiro aprezenta trez formas predominantes: a) *grandes formas longas*, b) *formas arredondadas*, sem flagelo. c) *pequenas formas longas*. O tipo asexuado oferece grande variedade de aspetos, sem que predomine uma forma carateristica de contorno externo, pelo que os colocamos num só grupo de d) *formas largas*.

A) Tipo sexuado.

a) *Grandes formas longas.*

Em preparações pelo metodo de Rosenbusch estas formas aprezentam estrutura muito nitida. Uma camada fibrilar, o periplasto, envolve uma porção alongada do plasma interno, de aspecto alveolar. Quazi toda a extensão do corpo do tripanozomo é percorrida pela dezenvolvida membrana ondulante, de diversas dobras.

O nucleo principal acha-se bem delimitado por espessa membrana, a qual não possue granulações de cromatina em sua face interna. Este nucleo aprezenta duas variantes de forma: ora é oval, com o maior diametro dirijido em sentido lonjitudinal (fig. 1 e 4, est. 7), outras vezes é esferico (figs. 2 e 3, est. 7). Oval ou esferico, elle oferece, por dentro e perto desta membrana, uma camada de linina, disposta concentricamente, quando esferico, e acumulada nos polos, quando oval (fig. 1 e 2. est. 7).

Não se póde apreciar a estrutura desta linina; todavia, notam-se, raras vezes, dispozições fibrilares. Nem sempre ella existe na zona de suco nuclear, como nol-o mostra a fig. 3, est. 7; mas em cazo contrario (o que é mais comum), ella limita externa-

Individuen derselben untersuchten Form Abweichungen findet.

Die verschiedenen im Organismus des Wirtstieres beobachteten Formen teile ich zwei verschiedenen Typen zu: A. Geschlechtstiere und B. Ungeschlechtlicher Typus.

Der erste Typus zeigt drei vorherrschende Formen: a) grosse längliche, b) abgerundete geisellose und c) kleine längliche Formen.

Der geschlechtslose Typus zeigt zahlreiche verschiedene Bilder, ohne Vorwiegen einer charakteristischen Form der äusseren Umrisse, weswegen ich sie in einer Gruppe vereinige, nämlich d) breite Formen.

A) Geschlechtlicher Typus.

a) Grosse längliche Formen.

In Präparaten nach Rosenbusch zeigen diese Formen eine sehr deutliche Struktur. Eine Faserschicht, der Periplast, umhüllt eine längliche Portion von wabig aussehenden Protoplasma. Die gut entwickelte, mehrere Falten aufweisende undulierende Membran folgt fast der gesammten Länge des Körpers.

Der Hauptkern zeigt sich deutlich begrenzt von einer dichten Membran, welche an ihrer Innenseite keine Chromatinkörper aufweist. Dieser Kern zeigt zwei verschiedene Formen; manchmal ist er oval mit längsgerichtetem grösstem Durchmesser, (Fig. 1 & 5, Tafel, 7), im andern Falle ist er rund (Fig. 2 & 3, Tafel 7). In beiden Fällen zeigt er nahe der Innenseite dieser Membran eine Schicht von Linin. Letzteres ist beim runden Kerne konzentrisch gelagert, beim ovalen an den Polen aufgehäuft (Fig. 1 & 2, Tafel 7).

Die Struktur dieses Linins lässt sich nicht erkennen, doch bemerkt man in seltenen Fällen, eine fibrilläre Anordnung. Nicht immer findet es sich in der Kernsaftzone, wie in Figur 3, Tafel 7; im andern häufiger beobachteten Falle begrenzt es die klare Kernsaftzone nach aussen. Diese Begrenzung wird um so deutlicher, je

mente a zona clara de suco nuclear. Este limite torna-se tanto mais nitido quanto maior fôr a quantidade de linina depozitada no interior do nucleo, chegando a ponto de parecer formar-se nova membrana (fig. 1, est. 7) que circumscreve a zona de suco nuclear com o cariozoma. Que realmente se forma tal membrana, izolando esta zona do resto do nucleo, mostra-nos a fig. 12, est. 7.

Constituindo-se a nova membrana, a outra primitiva e o acumulo de linina são destruidos no plasma. Disto rezultam os aspetos observados nas figs. 1 e 4, est. 7, em que, em torno da atual membrana do nucleo, são vistos (principalmente nos polos d'ele espaços claros como vacuolos, limitados externamente por vestijio de membrana, a qual ainda é bastante apreciavel na fig. 1, est. 7. Estes espaços claros nos polos rezultam da destruição da linina, que aí esteve acumulada. Na fig. 3. est. 7, elles não existem mais, estando aí tambem quazi dezaparecidos os restos da antiga membrana nuclear, reprezentados apenas por tenue semicirculo existente no plasma, para traz do nucleo. A existencia da linina, disposta pelo modo referido, parece ser devido ao cariozoma, que executa pulsações ciclicas.

Hartmann (1908) viu na *Entamoeba tetragena* aspetos, que, até certo ponto, lembram uma membrana nova em torno do cariozoma, sem contudo estar bem estabelecido este fato. No cazo prezente, é muito clara a formação duma membrana, deternada pelas *pulsações ciclicas*.

Pelo que fica exposto, conclue-se que não são tipos diversos de nucleos as formas ovais e esfericas, mas sómente aspetos diferentes dum mesmo nucleo em estadios de evolução periodica, dependentes do maior ou menor depozito de substancia acromatica no seu interior.

O cariozoma, bem delimitado pela zona de suco nuclear, aprezenta-se como um grande corpusculo, cuja periferia é grösser die im Innern des Kernes gelagerte Lininmenge ist, so dass es (Fig. 1, Tafel 7) scheinbar zur Bildung einer neuen Membran kommen kann, welche die Kernsaftzone mit dem Karyosom umschreibt. Dass eine solche Membran, welche diese Zone vom Reste des Kernes trennt, wirklich zu Stande kömmt, geht aus Fig. 12, Tafel 7, hervor.

Wenn sich diese neue Membran bildet, so wird die ursprüngliche, sowie die Lininanhäufungen im Plasma zerstört. So entstehen die Bilder auf Fig. 1—4, Tafel 7, wo man um die gegenwärtige Kernmembran, besonders an den Polen, helle, vakuolenartige und nach aussen von einer kaum angedeuteten Membran begrenzte Räume sieht, wie Fig. 1 noch ziemlich deutlich zeigt. Diese hellen Räume an den Polen entstehen durch Auflösung des daselbst angehäuften Linins. In Fig. 3 sind sie nicht mehr zu sehen und auch die Reste der früheren Kernmembran sind fast verschwunden und nur noch durch einen zarten Halbkreis angedeutet, der hinter dem Kerne im Plasma liegt. Das, wie beschrieben, angeordnete Linin scheint von dem Karyosom abzustammen, welches zyklische Pulsationen ausführt.

Hartmann sah 1908 bei *Entamoeba tetragena* Bilder, welche, bis zu einem gewissen Grade, einer neuen Membran um das Karyosom ähnlich sahen, jedoch war diese Tatsache nicht ganz sicher gestellt. In unserem Falle ist die durch zyklische Pulsationem bedingte Bildung einer Membran sehr deutlich.

Das eben auseinandergesetzte gestattet den Schluss, dass die runden und ovalen Kerne nicht verschiedene Typen darstellen, sondern nur verschiedene Bilder der gleichen, in periodischer Umwandlung begriffenen, Kerne, welche von der geringeren oder grösseren Ablagerung achromatischer Substanzen in seinem Inneren abhängen.

Das Karyosom, welches durch die klare Kernsaftzone deutlich begrenzt wird, erscheint als ein grosses Körperchen, welches an der Peripherie intensiver ge-

mais intensamente corada que a parte central. Acreditamos que este aspeto, dada a sua constancia, significa maior acumulo de cromatina nos alveolos mais externos da rede de plastina que constitue a trama do cariozoma e não consequencia da fixação. Tal aspeto lembra o observado por Hartmann (1910) na *Entamoeba testudinis*. As dimensões do cariozoma são variaveis e dificil é saber, si ellas rezultam das pulsações ciclicas ou si reprezentam diversidade de sexos. Entretanto os cariozomas das figs. 1 e 4, est. 7, que já realizaram abundantes pulsações (a avaliar pela quantidade de linina existente nas regiões polares do nucleo), são maiores do que os das figs. 2 e 3, est. 7, que ainda não executaram tais pulsações, ou o fizeram em muito pequeno gráo.

Isto faz acreditar que a existencia de cariozomas de tamanhos diversos é fato constante, significando provavelmente distinção de sexos nestas formas do parazito.

Fundado neste criterio (volumes de cariozoma), consideramos machas as formas que aprezentam maior cariozoma (figs. 1 e 4, est. 7), e firmas femeas as que o possuem menos volumozo (figs. 2 e 3, est. 7).

No interior do cariozoma acha-se o centriolo, cujo volume é aproximadamente um quinto daquelle do cariozoma do blefaroplasto. Aqui, sua prezença bem evidente constitue um fato a juntar-se ás verificações de Chagas (1909) e Rosenbusch (1909) que demonstraram categoricamente a existencia deste organ central nos nucleos dos tripanozomidas.

O blefaroplasto oferece a estrutura já conhecida para outros tripanozómidas. A membrana nuclear quazi sempre é vista com muita nitidez; entretanto ha cazos em que ella assim não se aprezenta, como na fig. 4, est. 7.

O cariozoma aparece ora alongado transversalmente, ora mais ou menos esferico. O centriolo não poude ser obser-

färbt ist, als im Innern. Wegen seiner Konstanz bedeutet dieses Bild, meines Erachtens, eine stärkere Chromatinanhäufung in den äusseren Maschen des Plastinnetzes, welches dem Karyosom zur Stütze dient und ist nicht eine Folge der Fixierungsweise. Es erinnert an das von Hartmann 1910 bei *Entamoeba testudinis* beobachtete Bild. Die Dimensionen des Karyosoms sind verschieden und es ist schwer zu entscheiden, ob dies durch die zyklischen Pulsationen bedingt ist oder eine sexuelle Differenz repräsentiert. Doch sind die Karyosome der Fig. 1 und 4, die schon zahlreiche Pulsationen ausführten, wie man aus der innerhalb der Kernpole gelegenen Lininmenge schliessen darf, grösser, als die auf Fig. 2 und 3, welche solche Pulsationen gar nicht oder nur in geringem Grade ausgeführt haben. Es stützt dies die Ansicht, dass das Vorkommen von Karyosomen verschiedener Grösse ein konstantes Faktum ist und wahrscheinlich bei diesen Parasitenformen einen Geschlechtsunterschied bedeutet.

Indem ich mich auf dieses Kriterium der Grösse der Karyosomen stütze, sehe ich die Formen mit grösserem Karyosom (Fig. 1 und 5) als männliche und die mit kleinerem (Fig. 2 und 3) als weibliche an.

Im Innern des Karyosoms befindet sich das Zentriol, dessen Volumen ungefähr ein Fünftel desjenigen des Blepharoplastkaryosoms beträgt. Hier bildet sein leicht zu konstatierendes Vorkommen einen neuen Beitrag zu den Beobachtungen von Chagas (1909) und Rosenbusch (1900), welche in kategorischer Weise das Vorkommen dieses Zentralorgans bei den Trypanosomidenkernen erwiesen.

Der Blepharoplast zeigt die schon von anderen Trypanosomiden bekannte Struktur. Die Kernmembran ist beinahe immer sehr deutlich zu sehen; doch giebt es auch Fälle, wo den nicht so ist, wie in der Fig 4.

Das Karyosom zeigt sich bald queroval, bald rundlich. Das Zentriol konnte nicht beobachtet werden, teils wegen seiner geringen Dimensionen, teils

vado em virtude da sua pequena dimensão e porque o blefaroplasto destas formas longas não sofre divizões binarias.

A estructura do aparelho flagelar nos *binucleata*, revelada pelas memoraveis pesquizas de SCHAUDINN no *oocineto* do *Hemoproteus noctuae*, mostra-nos que o blefaroplasto, proveniente do nucleo principal, dá orijem, por divizões hetero-polares, ao flajelo, havendo entre aquelle e a baze deste o cone bazal. Este é constituido de fibrilas acromaticas que reprezentam o fuzo perzistente da divizão hetero-polar, as quais envolvem um filamento cromatico central (rizoplasto) que liga o corpusculo do apice do cone ao cariozoma do blefaroplasto.

Nos tripanozomos já adultos, tanto nos de pequeno tamanho, como no que ora é descripto, tais dispozições de estrutura não se conservam nitidamente. Nos individuos novos, ellas são muito claras em diversos tripanozomos. Aqui, parece haver exceção para os estádios jovens do parazito encontrados no sangue (fig. 20, est. 7). Esta figura mostra que o blefaroplasto já se dividiu, dando orijem a um corpusculo que a elle está ligado por filamento de cromatina. Este granulo cromatico é o corpusculo bazal e o filamento é o rizoplasto. Tal aspeto parece mostrar que a divizão hetero-polar do blefaroplasto se realizou por simples estiramento do centriolo, sem formação do fuzo acromatico.

Aqui o corpusculo bazal, que sofrerá outras divizões, ficaria incluido na espessura da membrana nuclear, ponto de partida do flajelo; e o rizoplasto existente na zona de suco nuclear, seria reabsorvido, como verificaram HARTMANN e CHAGAS para a *Prowazekia cruzi*.

As preparações córadas pelo metodo de GIEMSA não aprezentam as minucias que acabaram de ser referidas nas *grandes formas longas* (figs. 30 e 31, est. 8). Notamweil der Blepharoplast dieser länglichen Formen keine Zweiteilung eingeht.

Die Struktur des Geisselapparates bei den *Binukleaten*, welche durch die denkwürdigen Studien SCHAUDINNS an den Ookineten des *Haemoproteus noctuae* aufgeklärt wurde, zeigt, dass der, vom Hauptkerne abstammende, Blepharoplast durch heteropolare Teilung die Geissel hervorbringt, wobei zwischen jenem und der Basis der letzteren der Basalkonus entsteht. Dieser ist von achromatischen Fibrillen gebildet, welche die persistierende Spindel der heteropolaren Teilung repräsentieren und ein zentrales Chromatinfilament, den Rhizoplasten, umgeben, welcher das Korn an der Spitze des Kegels mit dem Karyosom des Blepharoplastes bindet.

Bei den bereits erwachsenen Trypanosomen, sowohl bei denen geringer Grösse, als bei den soeben beschriebenen, bleiben nicht alle Strukturverhältnisse deutlich erhalten. An jungen Individuen sind sie bei den verschiedenen Trypanosomen deutlich erkennbar. Hier scheinen jedoch die Jugendstadien des im Blut vorkommenden Stadiums eine Ausnahme zu bilden (Fig. 20, Tafel 7). Diese Figur zeigt einen Blepharoplasten nach der Teilung, die zur Bildung eines Körperchens führte, welches durch ein Chromatinfilament mit ihm verbunden ist. Dieses Chromatinkorn ist das Basalkörperchen, das Filament ist der Rhizoplast und das Bild deutet an, dass die heteropolare Teilung des Blepharoplasts durch einfache Streckung des Zentriols, ohne Bildung einer achromatischen Spindel, zu Stande kam. Es würde hier das Basalkörperchen, das weitere Teilungen einging, in der Wand der Kernmembran, von welcher die Geissel entspringt, eingeschlossen und der in der Kernsaftzone liegende Rhizoplast würde resorbiert, wie HARTMANN und CHAGAS bei *Prowazekia cruzi* konstatierten.

Die nach GIEMSA gefärbten Trockenpräparate zeigen nur die, bei den grossen länglichen Formen angeführten, Einzelheiten (Fig. 30 und 31, Tafel 8). Man

se entretanto dois aspetos bem distintos do plasma : dispozição fibrilar muito nitida em alguns individuos (fig. 30, est. 8) e em outros aspeto alveolar (fig. 31, est. 8). Não podemos dizer, si se trata aqui de defeito da fixação ou de carateristica real.

b) *Formas arredondadas.*

São provenientes das formas precedentes, pela perda do flajelo e arredondamento do plasma. Vimos muitas vezes estádios intermediarios entre estas e aquellas, e, como estes aspetos intermediarios são mais instrutivos vistos a fresco que em preparações córadas, passamos a referir como as *grandes formas longas* tornam-se *arredondadas.*

Depois de destacado o flajelo, o endoplasma contráe-se em sentido lonjitudinal, alargando-se no transversal, até que os dois diametros se tornam aproximadamente iguais. Isto dá em rezultado a formação duma lente biconvexa, arredondada, envolvida exteriormente pelo periplasto que acompanhou as retrações do plasma interno.

A membrana ondulante, contendo abundantes fibrilas, fica situada nas bordas da figura e, devido á sua pouca consistencia, curva-se sobre uma das faces desta, formando uma grande dobra. Outras vezes o parazito parece sofrer distorsão em sentido lonjitudinal, e, dobrando-se ao meio, as duas metades da face oposta á membrana ondulante vêm fundir-se uma á outra, ficando com uma fórma mais alongada que no cazo precedente. Efetuado o arredondamento por este ultimo processo, a membrana ondulante acha-se em ambas as bordas estendida sobre uma das faces da celula, formando duas dobras. As figs. 5 e 12, est. 7, mostram até certo ponto os processos referidos.

Nas preparações córadas, estas formas arredondadas aprezentam, em virtude de sua pouca consistencia e da distensão do

bemerkt jedoch beim Plasma zwei sichtlich verschiedene Strukturbilder, eine deutlich fibrilläre Anordnung bei einigen Individuen (Fig. 30, Tafel 8), bei andern ein wabiges Aussehen (Fig. 31). Ich lasse es unentschieden, ob es sich um eine mangelhafte Fixierung oder um ein gutes Kennzeichen handelt.

b) Rundliche Formen.

Diese Formen gehen durch Verlust der Geissel und Abrundung des Plasmas aus den zuletzt beschriebenen hervor. Ich sah sehr häufig Uebergangsstadien zwischen jenen und diesen und da solche Zwischenstufen lehrreicher sind, wenn sie an frischem Materiale, im Gegensatze zu gefärbten Präparaten, beobachtet werden, so gehe ich zur Schilderung über, wie sich die grossen länglichen Formen abrunden.

Nach Verlust der Geissel kontrahiert sich das Endoplasma in der Längsrichtung unter Verbreiterung des Querdurchmessers, bis beide Axen ungefähr gleich lang sind. Es entsteht so eine rundliche bikonvexe Linse, die nach aussen vom Periplast eingehüllt ist, welcher die Umformung des Innenplasmas begleitet.

Die undulierende Membran, welche reichlich Fibrillen enthält, bleibt am Rande des Körpers und legt sich, in Folge ihrer Konsistenz, unter Bildung einer grossen Falte über eine seiner Flächen. Andere Male scheint sie in der Längsrichtung verzogen zu werden und erscheint dann länger als im vorigen Falle, indem sich die ihr gegenüberliegende Seite in der Mitte faltet und die zur Berührung kommenden Flächen verschmelzen. Findet die Abrundung auf diese Weise statt, so erscheint die undulierende Membran an beiden Rändern und verläuft unter Bildung zweier Falten über eine der Zellflächen. Die beschriebenen Vorgänge sind auf den Fig. 5—12 wenigstens teilweise zu erkennen.

In gefärbten Präparaten zeigen solche abgerundete Formen, wegen ihrer geringen Konsistenz und in Folge des

sangue sobre as laminulas, variadas pregas, ficando ás vezes o parazito dobrado aproximadamente ao meio (figs. 7 e 24, est. 8).

Pelo metodo de GIEMSA, a seco, estas formas não aprezentam tais dobras, aparecendo o plasma côrado homojeneamente em azul. Ellas constituem o tipo esferico de LAVERAN e MESNIL (1904).

Nestas formas, o blefaroplasto vai se aproximando aos poucos do nucleo principal, até ficar aderente á sua membrana. O trofonucleo oferece, a principio, a mesma estrutura do das *grandes formas longas* (fig. 5, est. 7), isto é, um cariozoma muito volumozo, em cujo centro é visto (em preparações bem diferenciadas), o centriolo, e para fóra uma zona de suco nuclear e a membrana nuclear. Deve se notar que nunca foi observada camada abundante de linina junta á face interna da membrana do nucleo.

O cariozoma em seguida se intumece, quazi toda a cromatina é dissolvida, ficando apenas o centriolo, envolvido de pequena quantidade della (figs. 6, 7 e 8, est. 7), imerso em rede finamente alveolar que aprezenta aproximadamente a mesma coloração do plasma, e possue, algumas vezes, pequenas granulações de cromatina (fig. 7, est. 7). Este esvaziamento do cariozoma em sua cromatina mostra realizar-se aqui o mesmo fenomeno já referido acima, das *pulsações ciclicas*. Si não são encontrados cromidios no plasma, tanto nestas como nas formas precedentes, é porque a cromatina passa para elle em estado de dissolução, como pensa HARTMANN (1910) para um cazo particular da *Entomoeba testudinis*.

Quando o cariozoma se acha assim *esvaziado* é que o blefaroplasto, então aderente á face externa da membrana, entra no nucleo (figs. 6, 7 e 8, est. 7). Parece ser só o cariozoma do blefaroplasto que penetra nelle, por perfuração da membrana, como é bem evidente nas mesmas

Ausstreichens, verschiedene Falten, wobei der Parasit manchmal annähernd in der Mitte zusammengelegt erscheint (Fig. 6 und 31). Bei der trockenen Methode von GIEMSA zeigen diese Formen keine solchen Falten und das Plasma erscheint gleichmässig blau gefärbt. Sie repräsentieren LAVERAN und MESNIL's sphärischen Typus (1904).

Bei diesen Formen nähert sich der Blepharoplast nach und nach dem Hauptkerne, bis er seiner Membran adhäriert. Der Trophonukleus zeigt anfangs dieselbe Struktur, wie bei den grossen länglichen Formen (Fig. 5), nämlich ein sehr grosses Karyosom, welches in gut differenzierten Präparaten ein Zentriol und, nach aussen, eine Kernsaftzone und eine Kernmembran zeigt. Es ist bemerkenswert, dass niemals eine reichliche Lininschicht nahe der Innenfläche der Kernmembran gefunden wurde.

Hierauf bläht sich das Karyosom, während sich fast das ganze Chromatin auflöst und nur ein kleiner Teil um das Zentriol erhalten bleibt (Fig. 6, 7 und 8). Letzteres ist umgeben von einem sehr fein wabigen Netz, welches annähernd dieselbe Färbung, wie das Plasma, zeigt und manchmal kleine Chromatinkörnchen aufweist (Fig. 7). Dieses Verschwinden des Chromatins aus dem Karyosom zeigt, dass auch hier die, schon oben erwähnte, Erscheinung der zyklischen Pulsationen stattfindet. Wenn in dieser und den vorhergehenden Formen im Plasma keine Chromidien gefunden werden, so rührt dies daher, dass das Chromatin in gelöstem Zustand in dasselbe übertritt, wie HARTMANN (1910) für den speziellen Fall der *Entamoeba testudinis* annimmt.

Nachdem das Karyosom auf diese Weise leer geworden, tritt der bisher mit der Aussenfläche der Membran verklebte Blepharoplast in den Kern ein (Fig. 6, 7 und 8). Es scheint, dass nur das Karyosom des Blepharoplasts nach Durchbohrung der Kernmembran eindringt, wie aus den angeführten Figuren deutlich zu ersehen ist. Nach seinem Eintritte ver-

figuras acima. Depois da sua penetração, elle permanece algum tempo na zona de suco nuclear (fig. 7, est. 7) e em seguida na massa alveolar de linina (restos do antigo cariozoma). A esse tempo começa efetuar-se a rejeneração do cariozoma do nucleo principal, aumentando gradativamente de volume (figs. 7, 11, est. 7).

Deste periodo em diante começam estádios interessantes que se ligam á multiplicação do tripanozomo, traduzindo-se por divizões do centriolo e cariozoma.

No interior da membrana nuclear o cariozoma divide-se por estiramento multiplas vezes, dando em rezultado pequenos cariozomas, ligados uns aos outros, quazi sempre, por uma fibrila cromatica. Estas fibrilas denotam, provavelmente, divizões intranucleares do centriolo (figs. 9 e 10, est. 7). Outras vezes os cariozomas secundarios não perzistem no interior da membrana. Então o primitivo adquire maior volume que de ordinario (compare-se figs. 11 e 12, est. 7), e em torno delle formase uma nova membrana que o izóla da linina que constituiu a armação do antigo cariozoma. Esta linina, na fig. 12, est. 7, é vista sob forma de crecente em cuja concavidade está a membrana de nova formação. Como já foi dito, esta parece ser realmente uma membrana, e não condensação das fibrilas de linina, simulando este aspecto. O fato de (na fig. 12, est. 7) o cariozoma filho atravessal-a sem deixar vestijio aparente de sua passajem, rezulta de ser ella ainda muito delgada, de paredes pouco rezistentes. Além disto, estes aspetos, vistos a fresco, aprezentam-se como duas veziculas refrinjentes, uma dentro da outra.

Nestas figuras o cariozoma vai expulsendo, sucessivamente, para o plasma granulos volumozos de cromatina. Estes, depois de destacados, fazem pressão na face interior da membrana nuclear, formando pequena hernia, pelo distendimento desta membrana.

Esta hernia que vai, aos poucos, se estrangulando, é constituida por uma

weilt es einige Zeit in der Kernsaftzone (Fig. 7) und darauf in der wabigen Lininmasse, dem Reste des ursprünglichen Karyosoms. Jetzt beginnt die Regeneration des Karyosomes des Hauptkernes, welches allmälich anschwillt (Fig. 7, 11). Von jetzt an erfolgen interessante Veränderungen, welche mit der Vermehrung der Trypanosomen in Verbindung stehen und sich durch Teilung von Zentriol und Karyosom äussern.

Im Innern der Kernmembran teilt sich das Karyosom vielfach durch einfache Streckung, wobei kleine Karyosomen entstehen, die fast immer durch eine Chromatinfaser mit einander verbunden sind. Letztere deuten mit Wahrscheinlichkeit auf intranukleäre Zentriolteilungen hin. (Fig. 9 und 10).

In andern Fällen findet keine Permanenz sekundärar Karyosome im Innern der Membran statt. In diesem Falle nimmt das Karyosom eine bedeutendere Grösse an, als sie sonst beobachtet wird, (vergl. Fig. 11 und 12) und erhält eine neue Membran, welche es von dem Linin trennt, welches das Gerüst des früheren Karyosomes bildete. Dieses Linin erscheint in Fig. 12 als ein Halbmond, in dessen Konkavität die neugebildete Membran liegt. Wie schon gesagt, scheint es sich um eine wirkliche Membran zu handeln, nicht bloss um eine Verdichtung von Lininfibrillen, welche diesen Anschein erweckt. Die Möglichkeit, dass das Tochterkaryosom dieselbe durchsetzen kann, ohne scheinbar eine Spur seines Durchtrittes zu hinterlassen, wird dadurch gegeben, dass die Membran noch sehr dünn ist und wenig widerstandsfähige Wände hat.

Ueberdies erscheinen diese Bilder in frischem Zustande als zwei lichtbrechende Bläschen, von denen das eine im andern liegt.

Auf diesen Figuren lässt das Karyosom sukzessive grosse Chromatinkörner ins Plasma austreten. Diese üben auf die Innenseite der Kernmembran einen Druck aus und bilden durch Dehnung derselben

membrana, uma *zona clara*, um *corpusculo de cromatina*, o qual na fig. 12, est. 7, ainda está prezo ao cariozoma por um filamento cromatico. Com tal estrutura, esta formação é evidentemente um nucleo filho. E' interessante, nestes cazos, o modo de constituir-se a membrana nuclear, que se orijina diretamente da do nucleo mais antigo.

Assim se formam os pequenos nucleos que ficam, espalhados no plasma do parazito (fig. 13, est. 7).

Aí, ainda se dividem; uns por processo semelhante ao inicial (como se vê na parte inferior, á esquerda, fig. 13), outros por divizão homopolar do cariozoma (como se nota na parte superior e mediana da mesma figura); outros ainda, *formam precocemnte o blefaroplasto*, por estiramento do centriolo, envolvido de pequena quantidade de cromatina (mesma figura). A referida figura mostra ainda, na parte central, o nucleo primitivo, cujo cariozoma possue certa riqueza cromatica, o que indica continuação do processo de multiplicação. Terminado este, elle fica, algumas vezes, sob forma de nucleo rezidual, numa zona excentrica do plasma (fig. 36, est. 8).

Quando o cariozoma destas formas se divide multiplas vezes dentro da membrana nuclear (figs. 9 e 10, est. 7) os cariozomas recemformados passam, provavelmente por dissolução do nucleo, duma só vez para o plasma.

Nestas condições, a membrana dos novos nucleos será formada a custa do proprio cariozoma, e não, como no primeiro cazo, oriunda diretamente da membrana do nucleo primitivo.

Em qualquer das condições referidas, os nucleos filhos, uma vez expulsos, tornam-se o centro enerjetico de determinada zona de plasma que se condensa em torno de cada um delles, constituindo asssim pequenas celulas (figs. 14, 15 e 16, est. 7).

A condensação do plasma traz como consequencia diminuição do volume das *formas arredondadas* como se verá pela comparação das figs. 5 e 16, est. 7.

kleine Hernien, die sich allmälich abschnüren. Sie bestehen aus einer Membran, einer hellen Zone und einem Chromatinkorn, welches in Fig. 12 noch durch einen Chromatinfaden mit dem Karyosom verbunden ist. Nach diesem Bau zu schliessen, handelt es sich zweifellos um einen Tochterkern. Die Art, wie sich in diesem Falle die Membran direkt aus derjenigen des Mutterkernes bildet, ist sehr interessant.

Auf solche Weise entstehen kleine, im Plasma des Parasiten zerstreute Kerne, die sich noch weiter teilen (Fig. 13, Tafel 7). Bei den einen geschieht dies durch einen dem ursprünglichen ähnlichen Prozess (S. Fig. 13 unten links), bei anderen durch eine homopolare Teilung des Karyosoms (Fig. 13 oben und in der Mitte); noch andere bilden frühzeitig einen Blepharoplasten, indem sich das, von einer geringen Chromatinmenge umgebene, Zentriol in die Länge zieht, wie in derselben Figur zu sehen ist. Ausserdem zeigt diese in der Mitte den Primärkern mit einem an Chromatin ziemlich reichen Karyosom, was ein Fortdauern des Teilungsprozesses andeutet. Nach Vollendung desselben findet er sich manchmal als Residualkern in einer vom Zentrum entfernten Plasmazone (S. Fig. 36, Taf. 8).

Wenn sich bei diesen Formen das Karyosom wiederholt innerhalb der Kernmembran teilt (Fig. 9 und 10), so treten die neugebildeten Karyosomen gleichzeiting ins Plasma über, wohl in Folge einer Auflösung des Kernes. In diesem Falle wird die Membran der neuen Kerne direkt vom Karyosom gebildet und nicht, wie oben beschrieben, auf Kosten der Membran des Mutterkernes.

In beiden Fällen bilden die Tochterkerne nach ihrem Austritt das Energiezentrum einer bestimmten Plasmazone, welche sich um sie verdichtet und so kleine Zellen bildet (Figs. 14—16). Die Kondensation des Plasmas führt zu einer Volumsabnahme der abgerundeten Formen, wie man aus der Vergleichung der Fig. 5—16 sieht.

O periplasto dá a impressão de membrana frouxa, imperfeita e que se destaca muitas vezes, dando o aspeto das figs. 26, est. 7 e 37 e 39, est. 8.

As celulas filhas, rezultantes da divizão multipla do tripanozomo, aparecem muito variaveis em dimensões como em numero. Aproximadamente esfericas, ellas aprezentam quazi sempre o nucleo situado excentricamente num dos polos. Elle tem aspeto igual ao dos nucleos de algumas formas jovens de tripanozomos: A membrana, zona de suco nuclear e grande cariozoma em cujo centro se vê, ás vezes, o centriolo. São vistas trabeculas de linina partindo do cariozoma e prendendo-se á face da membrana, havendo, algumas vezes, neste ponto de inserção, granulos de cromatina.

Raramente existe um granulo de cromatina ligado ao cariozoma (figs. 15 e 18, est. 7) que é, sem duvida, o blefaroplasto ainda aderente.

O plasma, de estrutura alveolar, dispõe-se sob o aspeto de crecente, cuja concavidade está voltada para o nucleo (mesmas figuras).

Estas celulas filhas acham-se espalhadas no endoplasma condensado, e são lançadas na circulação por destacamento ou rutura do periplasto, (fig. 16, est. 7 e 39, est. 8). O numero dellas variou, nas observações, de 5 a 17 unidades (figs. 18, est. 7 e 38, est. 8). Suas dimensões, como dissemos, são tambem muito variaveis. As mais volumozas, depois de livres na circulação crecem até certo ponto e sofrem novas divizões por processo analogo, dando em rezultado os aspetos observados nas figs. 17 e 19, est. 7 e 40, est. 8; o numero de unidades assim formadas, varia de 2 a 4, sendo mais comum o de trez. Ellas formam depois o aparelho flajelar pelo processo já referido (fig. 20, est. 7), constituindo os organismos que vão ser descritos abaixo.

Der Periplast erweckt den Eindruck einer losen und schlecht ausgebildeten Membran, welche sich öfters ablöst, wobei dann Bilder wie auf den Figuren 26, 37 und 38 entstehen.

Die Tochterzellen, welche bei der multipeln Teilung des Trypanosomas entstehen, zeigen sehr verschiedene Grösse und Zahl. Sie sind annähernd rund und ihr Kern liegt fast immer exzentrisch in der Nähe eines der Pole. Er gleicht den Kernen mancher Jugendformen von Trypanosomen und zeigt ein grosses Karyosom, in dessen Zentrum manchmal ein Zentriol. eine Kernsaftzone und eine Membran sichtbar sind. Man sieht auch vom Karyosom ausgehende und sich an der Innenseite der Membran anheftende Lininfäden, die manchmal am Anheftungspunkte Chromatinkörner zeigen.

Selten findet sich ein mit dem Karyosom verbundenes Chromatinkorn, wie in Fig. 15 und 18, welches zweifellos der noch adhärente Blepharoplast ist.

Das wabig aussehende Plasma zeigt die Form eines Halbmondes, dessen Konkavität dem Kerne zugewandt ist. (S. die nämlichen Figuren).

Diese Tochterzellen liegen im verdichteten Plasma zerstreut und treten durch Ruptur des Periplasts in den Blutstrom über (Fig. 18, Taf. 7 und Fig. 38, Taf. 8). Ihre Zahl schwankte in den Beobachtungen zwischen 5 und 17 und auch ihre Grösse ist, wie oben gesagt, eine sehr verschiedene. Die grössten wachsen, auch nachdem sie in die Zirkulation gelangten, noch bis zu einem gewissen Grade und teilen sich in derselben Weise weiter, so dass Bilder entstehen, wie sie die Fig. 17, 19 und 40 zeigen; die so entstandenen Teilindividuen wechseln zwischen zwei und vier, wobei die Zahl drei am häufigsten vorkömmt. Sie bilden dann auf die bereits beschriebene Weise den Geisselapparat (Fig. 20), wodurch die gleich zu bescheibenden Formen zu Stande kommen.

c) *Pequenas formas longas*:

Provenientes das unidades descritas, estes pequenos tripanozomos aprezentam dualidade morfica bem acentuada. Uns oferecem o nucleo alongado tendo em seu interior um cariozoma bastante volumozo limitado nitidamente pela zona de suco nuclear. Serão tais aspetos devidos ás variações ciclicas já referidas? E' provavel que estes elementos sejam dotados tambem desta faculdade, principalmente os reprezentados pela fig. 22, Est. 7; mas a auzencia, em uma das formas (fig. 23, est. 7), da zona de suco nuclear, com o cariozoma menor imerso numa rede de linina, é muito constante, pelo que julgamos serem ellas duas celulas realmente distintas.

Em ambas estas formas, os outros componentes são mais ou menos iguais, contando-se apenas, comumente, estrutura alveolar mais grosseira do endoplasma naquellas que aprezentam nucleo menos cromatico (comparem-se as 2 figs. 22 e 23, est. 7).

Considerações sobre as trez formas descritas.

Os aspetos até agora observados, existem, com muito maior frequencia, nas rãs infetadas recentemente, tornando-se raras, e até dezaparecendo, nas de infeções antigas.

O criterio adotado aqui, para classificar as infeções em *antigas* e *recentes*, (desde que nunca obtivemos infeções artificiais) funda-se naturalmente em que, em dada zona, donde procedia nosso material, sendo quazi a totalidade das rãs infetadas, é claro que as mais novas aprezentam infeções mais recentes que as mais velhas.

As *formas arredondadas*, em periodos de multiplicação encontram-se no sangue periferico, mas são mais abundantes na

c) *Kleine längliche Formen.*

Diese kleinen Trypanosomen, welche auf die soeben beschriebene Weise entstehen, zeigen zwei deutlich verschiedene Formen. Die einen haben eine länglichen Kern, der ein kleines, in einem Liningerüste liegendes Karyosom enthält (Fig. 23); auch die andern haben einen länglichen Kern, der aber in seinem Innern ein ziemlich grosses Karyosom zeigt, welches durch die Kernsaftzone deutlich begrenzt erscheint. Sind diese verschiedenen Bilder durch die schon erwähnten zyklischen Veränderungen zu erklären? Es ist wohl wahrscheinlich, dass auch diese Formen dieselbe Funktion besitzen, namentlich die in Fig 22 dargestellten, aber das Fehlen der Kernsaftzone und das kleine Karyosom im Innern eines Liningerüstes ist bei der ersten Form (Fig. 23) ein so konstantes, dass ich sie für zwei ihre Natur nach verschiedene Zellen halte.

Die anderen Komponenten sind bei beiden Formen so ziemlich gleich, nur zeigen diejenigen mit dem chromatinärmeren Kerne gewöhnlich eine gröbere wabige Struktur (vergl. die Fig. 22 und 23).

Betrachtungen ueber die drei beschriebenen Formen.

Die drei beobachteten Formen finden sich bei frisch infizierten Fröschen weit häufiger und werden bei denen mit älterer Infektion seltener oder verschwinden ganz. Das Kriterium für die Unterscheidung frischer und älterer Infektionen stützt sich, da ich, wie gesagt, keine künstliche Infektion erzielte, darauf, dass in der Zone, aus welcher fast mein gesammtes Material stammte, beinahe sämmtliche Frösche infiziert waren, so dass natürlicherweise bei den jungeren die Infektion neueren Datums sein musste, als bei den älteren.

Die runden, in Teilung begriffenen Formen finden sich im peripherischen Blute, sind aber in den Blutgefässen der inneren Organe weit häufiger, so dass sie

circulação viceral, fujindo assim, em grande parte, daquella para esta.

Acreditamos haver certa preferencia do parazito para o figado e, principalmente para os rins, sendo aí a sede de sua maior frequencia.

Nas outras viceras, exeção feita do baço, onde é visto poucas vezes, não pudemos verificar sua prezença. Estas formas não penetram na espessura dos tecidos; permanecem na rede vascular, onde, parece-nos, ficam aderentes ao endotelio dos pequenos vazos.

Os estádios que reveste o nucleo, nos degraos sucessivos de seu processo de multiplicação, são orijinais para os tripanozomos, mas assemelham-se aos de certos protozoarios, coccidios e, principalmente, heliozarios e radiolarios, que serviram de baze a HARTMANN (1909) para estabelecer a *teoria dos nucleos polienerjeticos (Polyenergide Kern).*

As pesquizas de ZUELZER (1909) na *Wagnerella borealis*, de JOLLOS (1909) na *Adelea ovata*, de BORGERT (1909) na *Aulacantha scolymantha*, de HARTMANN (1910) na *Trichonympha hertwigi*, e de CHAGAS (1910) em *Adelea hartmanni* — mostrando a formação de multiplos cariozomas dentro da membrana nuclear, os quais uma vez que sejam expulsos para o plasma, irão constituir nucleos de celulas filhas, — constituem o fato que, na citolojia dos protozoarios, mais se aproxima do cazo por nós observado. Por isso, julgamos ficar bem estabelecida a *polienerjia* para o nucleo destas formas do *Trypanosoma rotatorium.*

Sobre a multiplicação deste tripanozomo existem as pesquizas de DANILEWSKY (1889) referidas por FRANÇA e ATHIAS (1907) e as de DUTTON e TODD (1907).

A tecnica de que se serviram estes autores para sorpreender os estádios de divizão do parazito, consiste em retirar aseticamente o sangue do coração e observal-o, entre lamina e laminula ou em camara

grossenteils das erstere verlassen müssen, um letztere aufzusuchen.

Ich glaube, dass der Parasit eine Vorliebe für die Leber und besonders für die Nieren hat, da er daselbst am häufigsten gefunden wird.

In den anderen innern Organen konnte ich denselben nicht nachweisen, von der Milz abgesehen, wo er einige Male gefunden wurde. Diese Formen dringen nicht in das Gewebe selbst ein, sondern bleiben im Gefässnetz, wo sie, wie mir scheinen will, dem Endothel der kleinen Gefässe anhaften.

Die Zustände, welche der Kern in den sukzessiven Stadien des Teilungsprozesses aufweist, sind den Trypanosomen eigentümlich, ähneln aber denjenigen anderer Protozoen, wie Kokzidien und besonders Heliozoen und Radiolarien, auf welche HARTMANN die, von ihm aufgestellte, Theorie der polyenergiden Kerne basierte. Die von ZUELZER (1908) an *Wagnerella borealis*, von JOLLOS bei *Adelea ovata*, (1909) und BORGERT an *Aulacantha scolymantha*, von HARTMANN (1910) an *Trichonympha hertwigi* und von CHAGAS (1910) an *Adelea hartmanni* gemachten Untersuchungen zeigten die Bildung zahlreicher Karyosomen innerhalb der Kernmembran, welche, nach ihrem Austritt ins Plasma, Kerne von Tochterzellen bilden und repräsentieren in der Zytologie der Protozoen Beobachtungen, welche dem von mir beobachteten Falle am nächsten stehen. Ich halte deshalb die *Polyenergie* der Kerne dieser Formen des *Trypanosoma rotatorium* für erwiesen.

Ueber die Vermehrung dieses Trypanosomas giebt es, ausser den Untersuchungen von DANILEWSKY (1889), die 1907 von FRANÇA und ATHIAS referiert wurden, noch solche von DUTTON und TODD (1907).

Die Technik, welche diese Autoren anwandten, um die Teilungsstadien zu verfolgen, besteht darin, das Herzblut aseptisch zu entnehmen und, im Deckglaspräparat oder in der feuchten Kammer, während Stunden und Tagen mikro-

humida, ao microscopio, durante horas ou dias seguidos. Em momentos diversos, quando julgavam conveniente, faziam com este sangue preparações côradas, com o fim de conhecerem a morfolojia dos varios estádios.

Utilizando-se desta tecnica foi que descreveram o processo multiplicativo do parazito.

Os rezultados que obtiveram diferem totalmente dos que descrevemos atraz.

Elles falam de divizão multipla em que as formas redondas se dividiram em duas, estas em quatro, e assim por diante, até um numero muito elevado de unidades, calculado em 64 por DUTTON e TODD e em 120 por DANILEWSKY.

Como se vê facilmente, pela descrição dos autores, tal processo não constitue divizão multipla do tripanozomo, mas somente divizão binaria, rapida, *acompanhada de fissura do plasma.*

Este processo não se realiza no sangue do vertebrado, para qualquer que seja a forma do parazito. As referidas pesquizas não foram realizadas nas condições naturais de vida do protozoario, mas em condições artificiais, analogas aos meios de cultura.

Com qualquer tripanozomo cultivavel é possivel obter rezultados semelhantes aos de DANILEWSKY e de DUTTON e TODD, desde que elle seja observado pela mesma maneira.

Mesmo no interior de hematofagos, notam-se estádios puramente vejetativos, de diversos tripanozomidas analogos aos aspetos descritos para o *Trypanozoma rotatorium* pelos autores acima.

Seria bastante saber-se o rezultado final de tais divizões, dando orijem ao aparecimento de critidias, para concluir-se que este não poderia ser o processo natural, pois nenhum tripanozomida aprezenta aspetos critidiformes no sangue do vertebrado.

Existem duas opiniões sobre o papel do blefaroplasto na biolojia dos tripano-

skopisch zu beobachten. In verschiedenen, angemessenen Zeiträumen machten sie mit diesem Blute gefärbte Präparate, um die Morphologie der verschiedenen Stadien zu studieren. Nach den mit diesem Verfahren gemachten Beobachtungen beschrieben sie den Vermehrungsprozess der Parasiten; dabei erwähnen sie eine multiple Teilung, bei welcher die runden Formen in 2, 4 etc. bis zu einer sehr grossen Zahl von Individuen zerfallen, die von DUTTON und TODD auf 64, von DANIELSEN auf 120 geschätzt werden.

Das Resultat ihrer Beobachtungen ist von dem, welches ich oben beschrieb, völlig verschieden.

Wie man aus der Darstellung dieser Prozess nicht eine multiple Teilung des Trypanosomas dar, sondern eine binäre, *bei der auch das Plasma in zwei Teile zerfällt.*

Dieser Prozess vollzieht sich niemals im Blute der Wirbeltiere, um welche Form des Parasiten es sich auch handeln möge. Die Untersuchungen wurden eben nicht unter den natürlichen Lebensbedingungen der Protozoen angestellt, sondern unter künstlichen, denjenigen in Kulturmedien entsprechenden.

Aehnliche Resultate, wie die von DANILEWSKY, sowie von DUTTON und TODD, kann man bei jedem kultivierbaren Trypanosoma erhalten, sobald es in derselben Weise beobachtet wird. Auch im Innern von blutsaugenden Schmarotzern beobachtet man rein vegetative Stadien, welche den von jenen Autoren bei *Trypanosoma rotatorium* beobachteten entsprechen.

Die Kenntnis des Endresultates dieser Teilung, welche zur Bildung von Krithidien führt, würde genügen, um anzunehmen, dass dies nicht der natürliche Vorgang sein könne, da keine Trypanosomiden im Blute der Wirbeltiere krithidienartige Formen zeigen.

Ueber die Rolle des Blepharoplasts in der Biologie der Trypanosomiden giebt es zwei Meinungen, die zu erwähnen hier am Platze scheint. Eine derselben schreibt ihm die Funktion eines Zentrosomes bei

zomidas que, por oportunas, devem aqui ser referidas. Uma dellas atribue ao blefaroplasto a função de centrozoma nas cinezes do nucleo, a outra se refere a uma autogamia que seria realizada pela fuzão do mesmo blefaroplasto ao nucleo principal.

A primeira dellas foi relembrada ainda em 1907 por FRANÇA e ATHIAS, que se mostraram partidarios de tal idea, ao observarem no *Trypanosoma rotatorium* a penetração do cineto- no trofonucleo.

As aquizições em citolojia dos protozoarios são hoje de tal ordem que deixariamos de discutir esta opinião, si sobre ella não se tivessem manifestado os distintos pesquizadores do *Instituto Camara Pestana*.

HARTMANN e v. PROWAZEK (1907) demonstraram o papel predominante que dezempenha o centriolo dos protozoarios nas cinezes do nucleo, fornecendo uma das razões preponderantes para estabelecerem estreita homolojia entre o cariozoma delles e o centrozoma dos metazoarios. Pois, como é sabido pelas verificações de BOVERI (1900), confirmadas por outros autores, o centrozoma possue, alem das esferas atrativas e centroplasma, um centriolo, que é o seu elemento principal e cuja divizão dá inicio á cariocineze.

Pesquizas posteriores de HARTMANN (1908, 09 e 10), HARTMANN e v. PROWAZEK (1907), HARTMANN e NAEGLER (1909), NAEGLER (1909), ARAGÃO (1909), CHATTON (1910), ZUELZER (1909), CHAGAS (1910-1911), JOLLOS (1909-10), BOTT (1907), KEYSSELITZ (1908), e outros observadores vieram demonstrar a existencia e o papel do centriolo nas divizões nucleares em grande numero de amebas, em heliozoarios, coccidios, mixosporidios, dinoflajelados e até em infuzorios. Nos flajelados SCHAUDINN (1904) e v. PROWAZEK (1904) já notaram sua prezença e as pesquizas de BERLINER (1909), ROSENBUSCH (1908), CHAGAS (1909), HARTMANN

der Kinese des Kernes zu; die andere bezieht sich auf eine Autogamie, welche durch die Verschmelzung desselben mit dem Hauptkerne zu Stande kommen soll.

Die erste derselben wurde 1907 wieder von FRANÇA und ATHIAS angeführt, welche sich als Anhänger dieser Idee zeigten, weil sie bei *Trypanosoma rotatorium* das Eindringen des Kinetonukleus in den Hauptkern beobachteten.

Die Kenntnisse in der Zytologie der Protozoen sind heutzutage derart vorgeschritten, dass ich eine Diskussion dieser Ansicht unterlassen könnte, wenn sich die hervorragenden Forscher des *Institutes* CAMARA PESTANA nicht darüber geäussert hätten.

HARTMANN und v. PROWAZEK zeigten 1907 die hervorragende Rolle, welche das Zentriol der Protozoen bei den Karyokinesen übernimmt und gaben damit einen Hauptgrund für die Aufstellung einer weitgehenden Homologie zwischen ihrem Karyosom und dem Zentrosom der Metazoen. Wie von BOVERI 1900 festgestellt und von anderen Autoren bestätigt wurde, besitzt ja das Zentrosom neben den Attraktionssphären und dem Zentroplasma noch ein Zentriol, welches das Hauptelement darstellt und durch seine Teilung die Karyokinese einleitet.

Spätere Untersuchungen von HARTMANN (1908-1910), HARTMANN und v. PROWAZEK (1907), HARTMANN und NAEGLER (1909), ARAGÃO (1909), CHATTON (1910), ZUELZER (1909), CHAGAS (1910-1911), JOLLOS (1909-1910), BOTT (1908), KEYSSELITZ (1908) und noch anderen Beobachtern erwiesen das Vorkommen des Zentriols und seine wichtige Rolle bei der Kernteilung für zahlreiche Amoeben, sowie für Heliozoen, Kokzidien, Myxosporidien, Dinoflagellaten und sogar für Infusorien. Bei den Flagellaten beobachteten schon SCHAUDINN (1904) und v. PROWAZEK (1904) sein Vorkommen, welches durch die Untersuchungen von BERLINER (1909), ROSENBUSCH (1908), CHAGAS (1909), HARTMANN und CHAGAS (1909), HARTMANN und CHAGAS (1910),

e Chagas (1910), Aragão (1910), Jollos (1910) e Naegler (1910) vieram confirmal-a de modo seguro.

Por outro lado, as celebres pesquizas de Schaudinn (1904) sobre a formação do aparelho flajelar no *oocineto* do *Hemoproteus noctuae*, demonstraram que o nucleo principal dá orijem, por divizão hetero-polar, ao blefaroplasto. Atualmente é sabido que este possue todos os elementos do trofonucleo: membrana, zona de suco nuclear, cariozoma e centriolo (Rosenbusch e Chagas).

Elle é, portanto, um nucleo autonomo, independente, porque possue um centriolo, o qual provem do centriolo do nucelo principal. As mitozes que o blefaroplasto experimenta, semelhantes ás do trofonucleo, põem bem em evidencia a existencia de tal elemento no seu interior, como verificaram Rosenbusch, Hartmann e Chagas.

Pelo que se vê, o blefaroplasto poderia ser considerado *centrozoma* no cazo particular do *Trypanosoma rotatorium* si, por ocasião de sua formação, todo o centriolo do trofonucleo passasse para o interior delle. O cariozoma do nucleo principal ficaria então um nucleolo (no sentido de Hartmann).

E' verdade que o centriolo pode existir fóra do primitivo cariozoma, como provam as verificações de Schaudinn (1896) no *Acanthocystis*, de Keysselitz (1908) no *Myxobolus pfeifferi*, de Bott (1908) na *Pelomyxa palustris*, de Hartmann e Chagas (trabalhos ineditos) em hemogregarinas. Este caso porém, não é aplicavel aos *trypanosomidas*, mórmente ao *Trypanosoma rotatorium*, no qual o centriolo é claramente vizivel no cariozoma do nucleo principal.

Acrece ainda, aqui, a circumstancia de que nas *formas largas* (adiante descritas) deste parazito, as divizões binarias do nucleo principal e do blefaroplasto efetuam-se independentemente uma da outra (figs. 25, 26, est. 8).

Alem destas considerações, acreditamos que a fuzão do blefaroplasto ao nucleo

Aragão (1910), Jollos (1910) und Naegler (1910) vollständig bestätigt wurde.

Auf der anderen Seite zeigten die berühmten Studien von Schaudinn (1904) über die Entstehung des Geisselapparates beim Ookineten des *Haemoproteus noctuae*, dass der Hauptkern durch heteropolare Teilung den Blepharoplast erzeugt. Man weiss jetzt, dass dieser alle Elemente des Trophonukleus besitzt, also Membran, Kernsaftzone, Karyosom und Zentriol (Rosenbusch, Chagas). Derselbe ist also ein autonomer, unabhängiger Kern, weil er ein Zentriol besitzt, welches von demjenigen des Primitivkernes abstammt, und seine Mitosen, die denjenigen des Trophonukleus entsprechen, lassen das Vorkommen eines Zentralkornes in demselben deutlich erkennen, wie Rosenbusch, sowie Hartmann und Chagas festgestellt haben.

Wie man sieht, könnte im speziellen Falle des *Trypanosoma rotatorium* der Blepharoplast als ein Zentrosom angesehen werden, wenn bei seiner Bildung das ganze Zentriol des Trophonukleus in denselben überginge. Das Karyosom des Hauptkernes wäre dann ein Nukleus im Sinne von Hartmann.

Freilich kann das Zentriol ausserhalb des primitiven Karyosoms existieren, wie aus den Befunden von Schaudinn bei *Acanthocystis* (1896), von Keysselitz bei *Myxobolus pfeifferi* (1908), von Bott an *Pelomyxa palustris*, (1908), sowie aus unveröffentlichten Studien von Hartmann und Chagas über Hämogregarinen hervorgeht. Doch lässt sich dieser Fall nicht auf das *Trypanosoma rotatorium* anwenden, da hier das Zentriol im Hauptkerne sehr deutlich sichtbar ist.

Es kommt hierzu noch der Umstand, dass bei den oben beschriebenen, breiten Formen dieses Parasiten die Zweiteilungen des Hauptkerns und Blepharoplasts unabhängig von einander vor sich gehen (Fig. 25 und 26, Tafel. 8).

Endlich bin ich der Ansicht, dass die Verschmelzung des Blepharoplasts mit dem

no *Trypanosoma rotatorium*, semelhante ao que se passa no *Schizotrypanum cruzi*, não é fato constante, como adiante se verá.

A' opinião de Breinl e Moore (1907), referente a uma autogamia realizada no *Trypanosoma gambiense*, parece á primeira vista, que nossas pesquizas trazem certa confirmação.

Entretanto não podemos aceitar tal interpretação, porque é conhecido fato analogo ao deste parazito, muito bem observado por Chagas no *Schizotrypanum*, constando da fuzão que, ás vezes, se observa do blefaroplasto ao trofonucleo, logo antes de se efetuar a divizão nuclear. Não se pode considerar este ultimo cazo como autogamia, porque o autor verificou diversas phases do ciclo sexuado do protozoario no hemiptero transmissor.

Nos protozoarios, em que seguramente existe a autogamia, os nucleos copulantes têm orijem, processos e aspetos inteiramente diversos dos que se verificam no *Trypanosoma rotatorium*.

A fuzão do blefaroplasto ao nucleo, constituindo processo analogo ao que se realiza no *Schizotrypanum*, consideramos como indicação do sexo do parazito, o que adiante explicaremos.

B) Tipo asexuado.

c) Formas largas.

Ellas predominam nas infeções antigas (fig. 21, est. 7, figs. 25, 27, 32 e 35, est. 8).

Oferecem extrema variabilidade de dimensões e contorno, podendo-se dizer mesmo, não haver modalidade predominante. Entretanto, distinguem-se facilmente das formas acima descritas, qualquer que seja o seu volume. Nas preparações córadas pelo metodo de Giemsa estes individuos aprezentam o plasma grosseiramente alveolar, muitas vezes com gra-

Kerne des *Trypanosoma rotatorium*, ähnlich, wie bei *Schizotrypanum cruzi*, nicht konstant stattfindet, wie weiter unten begründet werden soll.

Auf den ersten Blick könnte es scheinen, dass meine Beobachtungen für die Anschauung von Breinl und Moore (1907), betreffs der bei *Trypanosoma gambiense* stattfindenden Autogamie, eine Bestätigung bilden. Doch kann ich einer solchen Deutung nicht beipflichten, weil die Verschmelzung des Blepharoplasts mit dem Trophonukleus unmittelbar vor der Kernteilung, eine, ihrem Befunde entsprechende, bekannte und von Chagas bei *Schizotrypanum* genau beobachtete Tatsache ist. Dieser Fall kann aber nicht als Autogamie gedeutet werden, weil der Autor die Eigentümlichkeiten des sexuellen Zyklus im Ueberträger für diesen Protozoen festgestellt hat.

Bei den Protozoen, deren Autogamie unzweifelhaft ist, zeigen die kopulierenden Kerne sich nach Ursprung, Form und Verhalten ganz verschieden von denen, die man bei *Trypanosoma rotatorium* beobachtet.

Die Verschmelzung des Blepharoplasts mit dem Kerne entspricht einem bei *Schizotrypanum* vorkommenden Vorgange; ich betrachte dieselbe als Geschlechtscharakter, wie ich weiter unten erörtern werde.

B) Geschlechtsloser Typus.

c) Breite Formen.

Bei älteren Infektionen wiegen die breiteren Formen vor (Fig. 21, Taf. 7, Fig. 25, 27, 32, Taf. 8). Dieselben zeigen in Dimensionen und Umriss die grösste Verschiedenheit, so dass man sogar sagen kann, dass keine bestimmte Form vorwiegt. Immerhin unterscheiden sie sich unschwer von den vorher erwähnten Formen, welches auch ihre Grösse sei. In nach Giemsa gefärbten Präparaten zeigen diese Formen ein grosswabiges Plasma, welches oft rotgefärbte Granulationen enthält, denen Lebedeff Chromatinnatur

nulações côradas em vermelho, as quais LEBEDEFF considera de natureza cromatica, pelo que as denominou *formas cromidiais*. Quando côradas pelo processo de ROSENBUSCH oferecem o seguinte aspeto: O endoplasma possue grossos alveolos; muitas vezes se vêm as granulações, acima referidas, côradas em escuro; o periplasto é pobre em fibrilas (figs. 21, est. 7, 26 e 27, est. 8).

O nucleo é de aspeto muito caraterístico, servindo para a distinção destas formas das precedentes.

A's vezes mal se percebe uma tenue membrana nuclear (fig. 21, est. 7), outras vezes ella se torna mais vizivel (fig. 26, est. 8).

No seu interior não se percebe a zona clara de suco nuclear; é todo ocupado por uma trama de linina, geralmente de forma oval.

Nesta se encontra o cariozoma, comumente situado num dos polos (fig. 21, est. 7), como bloco compato de cromatina, em cujo interior nunca poude ser visto o centriolo. A situação excentrica do cariozoma é que determina muitas vezes o aspeto alongado do nucleo, habitualmente observado nas colorações pelo GIEMSA (figs. 34 e 35, est. 8).

O blefaroplasto aprezenta-se como um granulo escuro, alongado ás vezes, outras vezes esferico, envolvido dum halo claro.

Sua membrana não é apreciavel, dando a zona de suco nuclear a impressão dum vacuolo no plasma (fig. 21, est 7, fig. 26, est. 8).

O flajelo parece quazi sempre partir do cariozoma do blefaroplasto e percorre a borda livre duma dezenvolvida membrana ondulante, a qual é sempre mais larga e e com pregas mais acentuadas do que a das formas atraz referidas.

As *formas largas*, qualquer que seja o seu tamanho, sofrem divizões binarias. que dão outros tripanozomos. Portanto, bazeando-se no criterio de suas dimensões,

zuschrieb, weshalb er sie Chromidialformen nannte. Werden sie nach ROSENBUSCH gefärbt, so zeigen sie folgende Bilder: Das Endoplasma weist grosse Vakuolen auf, die oben erwähnten Körner zeigen oft eine dunkle Färbung und der Periplast ist arm an Fibrillen (Fig. 21, 25-26 und 28).

Der Kern hat ein sehr charakteristisches Aussehen, was zur Unterscheidung von den vorerwähnten Formen dient. Die Kernmembran ist oft dünn und schwer zu erkennen (Fig. 21, Taf. 7), andere Male ist sie deutlicher (Fig. 26, Taf. 8). Sein Inneres zeigt keine klare Kernsaftzone und wird ganz von einem, gewöhnlich ovalen, Lininnetz eingenommen. In diesem erscheint das Karyosom, gewöhnlich an einem der Pole gelegen, als ein kompakter Chromatinblock, der niemals im Innern ein Zentriol erkennen liess. Diese exzentrische Lagerung des Karyosoms bedingt oft die längliche Form des Kerns, die man gewöhnlich bei der GIEMSAfärbung beobachtet (Fig. 34 und 35, Taf. 8).

Der Blepharoplast erscheint als bald längliches, bald rundes, von einem hellen Hofe umgebenes Korn. Seine Membran ist nicht erkennbar und die Kernsaftzone macht den Eindruck einer Vakuole im Plasma (Fig. 21, Taf. 7, Fig. 26, Taf. 8).

Die Geissel scheint fast immer vom Karyosom des Blepharoplasts auszugehen und verläuft am freien Rande einer gut entwickelten undulierenden Membran, welche immer breiter und stärker gefaltet erscheint, als bei den früher erörterten Formen.

Die *breiten Formen* können, in jeder beliebigen Grösse, eine Zweiteilung eingehen, die neue Trypanosomen liefert. Man kann also die Dimensionen nicht zur Trennung von jungen und erwachsenen Formen verwenden. Grosse und kleine erscheinen gleichermassen in Zweiteilung begriffen.

Der Blepharoplast dringt in diesen Fällen niemals in den Nukleus ein und

não se podem dividir tais formas em *jovens* e *adultas*. Grandes ou pequenas, ellas entram igualmente em multiplicação.

O blefaroplasto, nestes cazos, nunca penetra no nucleo, e efetua sua divizão independentemente deste.

O flajelo raramente se destaca do corpo do parazito; entretanto ha cazos em que elle dezaparece totalmente (fig. 25, est. 8). Deve-se notar que o blefaroplasto, reprezentado na fig. 25, est. 8, está em plano inferior, e não entre os dois cariozomas filhos, como parece á primeira vista.

A divizão nuclear parece efetuar-se por processo mitozico, como mostra a fig. 27, est. 8, onde os centriolos filhos, já envolvidos pelos cromozomos do cariozoma, estão ainda ligados pelo filamento central (centrodesmoze) existente no centro do fuzo acromatico.

Entretanto nunca nos foi possivel verificar seu inicio.

Rompido o fuzo da divizão, os cariozomas afastam-se para o plasma onde constituem novos nucleos (figs. 25 e 27, est. 8).

Nunca podemos verificar si o blefaroplasto se divide por mitoze. A fig. 27, est. 8 mostra o cinetonucleo já dividido no plasma. Como aqui se vê, aquelle que ficou sem o flajelo (o da parte superior da figura) vai dar orijem a outro, pela divizão que aprezenta.

III. CULTURAS.

Foram feitas no meio de Novy e Mac Neal. Aí eram depozitadas algumas gotas de sangue colhido aseticamente do coração.

Antes de semeado, o sangue era examinado a fresco ou em preparações côradas para saber-se qual das diversas formas predominava.

As culturas eram examinadas de trez em trez horas no primeiro dia, depois duas vezes ao dia, até o aparecimento das formas flajeladas longas.

De 15 a 25 dias estas formas vão diminuindo até dezaparecerem por completo. Por isto nunca nos foi possivel observar o fato referido por Bouet (1906), vollzieht seine Teilung unabhängig von demselben.

Die Geissel löst sich selten vom Parasitenleibe ab, doch kömmt es vor, dass sie ganz verschwindet (Fig. 25, Taf. 8). Es muss bemerkt werden, dass der daselbst abgebildete Blepharoplast in einer tieferen Ebene liegt und nicht zwischen den beiden Tochterkaryosomen, wie es auf den ersten Blick erscheint.

Die Kernteilung erfolgt anscheinend durch Mitose, wie aus Fig. 27, Taf. 8 ersichtlich, wo die, schon von den Chromosomen des Karyosoms umgebenen, Tochterzentriolen noch durch ein zentrales Filament, eine Zentrodesmose, die in der achromatischen Spindel liegt, verbunden sind. Es war mir indessen nie möglich, das Anfangsstadium des Prozesses zu beobachten.

Nach Zerreissen der Teilungsspindel rücken die Karyosomen auseinander und bilden im Plasma neue Kerne (Fig. 25 und 27, Taf. 8).

Ob sich auch der Blepharoplast durch Mitose teilt, gelang mir niemals festzustellen. Fig. 27, Taf. 8 zeigt den Kinetonukleus bereits geteilt im Plasma und man sieht, dass der, ohne Geissel gebliebene, Tochterkern im obern Teil der Figur eine Teilung zeigt, welche zur Bildung eines neuen Kernes führen muss.

III. KULTUREN.

Ich machte Kulturen auf dem Medium von Novy und Mac Neal, indem ich einige Tropfen steril aus dem Herzen entnommenen Blutes auf dasselbe brachte. Vor der Aussaat wurde das Blut in frischen und gefärbten Präparaten untersucht, um festzustellen, welche Form darin vorherrschte.

Die Kulturen wurden am ersten Tage dreistündlich und nachher zweimal im Tage untersucht, bis lange geisseltragende Formen erschienen.

Vom 15ten bis zum 25ten Tage nahmen diese Formen ab, um endlich ganz zu verschwinden. Es war mir daher nicht

nas culturas antigas. Julgamos tão rapida extinção ser devida á temperatura ambiente que, no verão, regulava em media 28°.

As diversas formas do parazito, observadas logo nas primeiras horas depois de semeadas, comportam-se mais ou menos de modo identico.

As *grandes* e *pequenas formas longas* arredondam-se; as *arredondadas* e *largas* entram em intensa divizão binaria, e todas terminam pelo aparecimento de individuos flajelados, do quarto dia em diante. A divizão destas formas, aqui, constitue o fato observado por Danilewsky (1889) e Dutton e Todd (1907), já referido. As pequenas formas longas passam por modificações interessantes.

Seu endoplasma vai se condensando em torno do nucleo e do blefaroplasto, e o periplasto, tornando-se mais frouxo, acaba por se destacar delle, como é apreciavel nas figs. 41 e 42, est. 8.

Os corpos redondos, aflajelados, vistos nos primeiros dias nas culturas, gozam de intenso poder de multiplicação.

O plasma delles aprezenta a mesma estrutura já descrita para outros aspetos. O nucleo oferece, como nas formas jovens do sangue, grande riqueza de cromatina e plastina, aprezentando um cariozoma volumozo. Deste partem trabeculas de linina que, atravessando a zona de suco nuclear, atinjem a face interna da membrana nuclear, havendo quazi sempre neste ponto granulações cromaticas.

O blefaroplasto oferece geralmente a forma de bastonetes e raras vezes é esferico. Elle divide-se, do mesmo modo que o trofonucleo, por processo binario, e esta divizão precede comumente a do nucleo principal, como vemos em qualquer das celulas da fig. 43, est. 8.

Nestas formas pode-se ver facilmente a formação do flajelo, á custa do blefaroplasto (figs. 43, est. 8, á esquerda e 44, est. 8). Os individuos flajelados são a principio esfericos (figs. 44 e 45), depois

möglich die von Bourt (1906) berichtete Erscheinung an alten Kulturen festzustellen. Ich schrieb das rasche Erlöschen derselben der Temperatur zu, welche im Sommer durchschnittlich 28° betrug.

In den ersten Stunden nach der Aussaat beobachtet, verhalten sich die verschiedenen Parasitenformen ungefähr gleich.

Die *grossen und kleinen Formen* runden sich ab, die *rundlichen und breiten* beginnen eine intensive Zweiteilung und schliesslich erscheinen bei allen, vom vierten Tage an, geisseltragende Formen. Diese Teilungen entsprechen den obigen, von Danilewsky (1889), sowie von Dutton und Todd (1907) gemachten Beobachtungen.

Die kleinen langen Formen machen interessante Veränderungen durch. Das Endoplasma kondensiert sich um Blepharoplast und Nukleus, während der Periplast sich lockert und schliesslich ablöst, wie Fig. 41 und 42 auf Taf. 8 zeigen.

Die runden geissellossen Formen, welche man in den Kulturen während der ersten Tage sieht, zeigen eine intensive Vermehrungskraft.

Ihr Plasma besitzt die schon bei anderen Formen beschriebene Struktur. Der Kern zeigt, wie bei den jungen Blutformen, einen grossen Reichtum an Chromatin und Plastin und enthält ein grosses Karyosom. Von letzterem gehen Lininbalken aus, welche die Kernsaftzone durchsetzten und die Innenfläche der Nuklearmembran erreichen, wobei man am letzteren Orte fast immer Chromatinkörner beobachtet.

Der Blepharoplast zeigt gewöhnlich Stäbchenform, seltener ist er rund. Er geht, wie der Trophonukleus, eine Zweiteilung ein, welche gewöhnlich derjenigen des Hauptkernes vorausgeht, wie man bei allen Zellen der Fig. 43, Taf. 8 sieht.

Bei diesen Formen erkennt man leicht die Bildung der Geissel auf Kosten des Blepharoplast (Taf. 8, Fig. 43 links und Fig. 44). Die geisseltragenden Individuen sind anfangs rund (Fig. 44 und 45),

alongam-se, adquirindo a forma de critidias.

Estas são de contorno um pouco variavel, umas largas (figs. 47 e 49) outras figs. 54—56, est. 8) longas e finas

Algumas culturas aprezentavam, ao lado de critidias, formas tripanozomicas muito pequenas. A existencia de formas tripanozomicas em culturas foi observada, ainda ha pouco, por Woodcock (1910) no *Trypanosoma fringillinarum.*

As critidias do *Trypanosoma rotatorium* aprezentam comumente aspetos tipicos; outras vezes, não oferecem grande nitidez, como se verá pela comparação das figuras 47—52, est. 8.

Em certas critidias o blefaroplasto caminha para traz do nucleo (fig. 53, est. 8), o que parece dar em rezultado o aparecimento dos pequenos tripanozomos (figs. 54—56, Est. 8).

Estes são organismos finos, alongados, providos de membrana ondulante bem desenvolvida. Seu nucleo difere do das critidias por não aprezentar trabeculas de linina, dispostas entre o cariozoma e a membrana nuclear; multiplicam-se por processo binario.

A figura 56, Est. 8, mostra o inicio da mitoze do nucleo, indicada pela divizão previa do centriolo.

O blefaroplasto aprezenta-se quazi sempre como bastonete, situado transversalmente, indicando tal aspeto inicio de divizão (figs. 54 e 56, est. 8).

Quando examinadas a fresco, pela natureza do movimento, distinguem-se facilmente estas formas das critidias.

As culturas feitas com sangue, em que existiam as *grandes* e *pequenas formas longas* e *arredondadas*, aprezentavam. no fim de alguns dias, organismos tripanozomicos ao lado das critidias; quando no sangue semeado havia predominancia das *formas largas*, as culturas só aprezentavam critidias.

IV. CONSIDERAÇÕES GERAIS.

Pelo que fica exposto, rezulta claramente a dualidade de processos multipli-

dann verlängern sie sich und nehmen die Krithidienform an. Sie zeigen dann ein etwas wechselndes Bild, einige sind breit (Fig. 47 und 49), andere sehr verlängert. (Fig. 52, Taf. 8).

Einige Kulturen zeigten neben Krithidien kleine Trypanosomenformen. Das Vorkommen von solchen in Kulturen wurde vor kurzem von Woodcock bei *Trypanosoma fringillinarum* beobachtet.

Die Krithidien des *Trypanosoma rotatorium* zeigen gewöhnlich ein typisches Aussehen, manchmal sind sie aber nicht sehr deutlich, wie man durch Vergleichung der Fig. 47—52 auf Taf. 8 erkennt.

Bei manchen Krithidien rückt der Blepharoplast hinter den Kern (Fig. 53, Taf. 8), was dem Auftreten der kleinen Trypanosomen vorauszugehen scheint (Fig. 54—56, Taf. 8).

Diese Formen sind dünn, gestreckt und mit gut entwickelter undulierender Membran versehen. Ihr Kern unterscheidet sich dadurch von demjenigen der Krithidien, dass er zwischen Karyosom und Kernmembran keine Lininbälkchen zeigt. Er vermehrt sich durch Zweiteilung.

Fig. 56 auf Taf. 8 zeigt den Anfang einer Kernmitose, welche durch die vorausgehende Teilung des Zentriols angedeutet wird.

Der Blepharoplast erscheint fast immer als ein quergelagertes Stäbchen, was auf eine beginnende Teilung weist (Fig. 54 und 56, Taf. 8).

In frischen Präparaten lassen sich die Krithidienformen durch die Art ihrer Bewegung leicht unterscheiden.

Wurden die Kulturen mit Blut gemacht, in welchem grosse und kleine längliche und rundliche Formen vorkamen, so zeigten sie nach einigen Tagen Trypanosomen neben den Krithidien; herrschten dagegen im eingesäten Blute die breiten Formen vor, so fanden sich in den Kulturen nur Krithidien.

IV. ALLGEMEINE BETRACHTUNGEN.

Aus meinen Auseinandersetzungen erhellt deutlich eine Duplizität bei der

cativos no *Trypanosoma rotatorium*: divizão multipla e divizão binaria. A divizão, pela formação de multiplas unidades, é realizada nas *formas arredondadas*, provenientes das *grandes formas longas*, e dá em rezultado, depois de terminado o processo, ás *pequenas formas longas*.

Em individuos pertencentes a qualquer destas formas existem tambem aspetos de duplicidade do nucleo, expressos pela maior ou menor riqueza cromatica.

Nas *formas arredondadas*, só nos foi possivel surpreender tal dualidade, depois de efetuada a divizão nuclear. Expressa-se ella, aqui, pelo aparecimento do blefaroplasto que, em alguns cazos (como na fig. 13, est. 7), se realiza logo que os nucleos filhos se acham no plasma, e em outros (como nas figs. 14, 15, 18, est. 7) só aparece muito tardiamente, num momento em que as celulas filhas, já formadas, estão a dezagregar-se. A divizão binaria efetua-se em organismos de aspetos muito variados, os quais são todavia bem caraterizados pela dispozição do nucleo e da membrana ondulante, muito larga e com franjas profundas.

Estes fatos tornam-se de facil compreensão desde que sejam comparados aos rezultados das minuciozas pesquizas de Chagas sobre o *Schizotrypanum cruzi*, as quais foram, para nós, uma precioza baze de orientação.

No *Schizotrypanum* ha dois processos de multiplicação: a divizão multipla no pulmão do vertebrado e a divizão binaria de formas aflajeladas, semelhantes a uma *Leishmania*, que se passa nas fibras musculares e em diversos tecidos.

De recente verificação, este processo está conhecido por uma conferencia realizada pelo autor e pela noticia de Hartmann (Arch. f. Protistenkunde, 1910).

No pulmão notam-se dois aspetos do parazito: um em que elle perde o blefaro-

Vermehrung des *Trypanosoma rotatorium*, nämlich multiple und binäre Teilung. Die Teilung unter Bildung vieler Teilindividuen vollzieht sich bei den *abgerundeten*, von den *grossen länglichen* abgeleiteten Formen und führt, nach Vollendung des Prozesses, zu den *kleinen länglichen Formen*.

Bei den Individuen, welche zu irgend einer dieser Formen gehören, findet sich auch eine Duplizität im Aussehen der Kerne, welche sich in grösserem oder geringerem Chromatinreichtum ausdrückt.

Bei den runden Formen konnte ich eine solche Dualität nur nach stattgefundener Kernteilung entdecken. Hier zeigt sie sich durch das Erscheinen des Blepharoplasts, welches in einigen Fällen, wie in Fig. 13 auf Taf. 7, sich sofort vollzieht, sobald die Tochterkerne ins Plasma übergetreten sind, in andern, wie in Fig. 14, 15, 18 auf Taf. 7, erst sehr spät auftritt, wenn die bereits gebildeten Tochterzellen anfangen auseinanderzuweichen. Die binäre Teilung findet sich bei Formen von sehr verschiedenem Aussehen, die jedoch immer durch die Anordnung des Kernes und die breite und stark ausgebuchtete undulierende Membran gekennzeichnet sind.

Diese Tatsachen sind leicht zu verstehen, wenn man sie mit den Resultaten der eingehenden Untersuchungen von Chagas über *Schizotrypanum cruzi* vergleicht, welche bei meinen Untersuchungen als wertvolle Grundlage dienten.

Bem *Schizotrypanum* kommen zwei Arten der Vermehrung vor: eine multiple Teilung in den Lungen des Wirbeltieres und eine Zweiteilung geisselloser Formen, ähnlich einer *Leishmania*, welche in den Muskelfasern und in verschiedenen Geweben vorkömmt.

Dieser neuerdings festgestellte Vorgang ist durch einen Vortrag des Autors und eine Notiz von Hartmann (Arch. f. Protistenkunde 1910) bekannt geworden.

In den Lungen beobachtet man zwei Formen des Parasiten, eine, in welcher er den Blepharoplast einbüsst und eine

plasto, outro em que este persiste, fundindo-se ao nucleo principal.

Rezulta daí aprezentarem as celulas filhas, precocemente ou não, um blefaroplasto, conforme provieram dum ou de outro cazo.

Está perfeitamente estabelecido que esta divizão no pulmão é uma gametojéneze distinguivel, conforme o aparecimento precoce do blefaroplasto ou a sua auzencia, em micro- e macrogametogonia.

As formas de divizão nos musculos e tecidos constituem o tipo asexuado do protozoario.

Observa-se no *Trypanosoma rotatorium* a repetição dos fatos precedentes.

Por isto consideramos as *grandes formas longas* como sexuadas, e segundo a maior ou menor riqueza cromatica do nucleo, como machas ou femeas (figs. 1—4, est. 7).

As *formas arredondadas*, estádios mais adiantados das precedentes, aprezentarão naturalmente esta dualidade; mas não nos foi possivel observar o inicio da divizão das formas femeas, o qual seria reprezentado pela perda do blefaroplasto (como acontece no *Schizotrypanum*); nem a terminação da divizão das formas machas, a qual seria expressa pela existencia dum blefaroplasto nas unidades jovens (como faz supor a observação da figura 13, est. 7).

Assim, acreditamos que as figuras 5 a 12 reprezentam, pela fuzão do cineto- ao trofonucleo, formas machas, das quais o periodo mais adiantado da microgametogonia, que observámos, é reprezantado pela figura 13, est. 7, onde já é visto um blefaroplasto ligado a alguns dos nucleos filhos.

As figs. 14 a 19, est. 7, pensamos que reprezentam, devido á auzencia quazi constante de blefaroplasto nas unidades

andere, in welcher er persistiert, aber mit dem Hauptkerne verschmilzt.

In Folge dessen zeigen die Tochterzellen den Blepharoplast frühzeitig oder nicht, je nachdem sie von der einen oder anderen Form abstammen.

Es steht fest, dass diese Teilung in der Lunge eine Gametogenese ist, welche, je nach dem frühzeitigen Erscheinen des Blepharoplasts oder seinem Fehlen, in eine Mikro- und Makrogametogonie geteilt werden kann.

Die Teilungsprozesse in den Muskeln und Geweben bilden den asexuellen Typus des Protozoen.

Beim *Trypanosoma rotatorium* beobachtet man eine Wiederholung dieser Tatsache.

Deswegen spreche ich die *grossen länglichen Formen* als geschlechtliche an und zwar, je nach dem grösseren oder geringeren Chromatinreichtum des Kerns, als männliche oder weibliche (Fig. 1—4, Taf. 7).

Die *abgerundeten Formen* stellen ein vorgerückteres Stadium jener dar und werden daher natürlicherweise dieselbe Dualität zeigen; doch war es mir nicht möglich, den Anfang der Teilung der weiblichen Formen zu beobachten, welcher sich, wie beim Schizotrypanum durch Verlust des Blepharoplasts kennzeichnen würde; noch das Ende der Teilung der männlichen Formen, welche sich durch das Vorkommen eines Blepharoplasts bei den jungen Teilindividuen verraten würde, wie man nach Fig. 13 schliessen kann.

Demgemäss glaube ich, das Fig. 5 und 12 wegen Verschmelzung von Kineto- und Trophonukleus männliche Formen darstellen, deren vorgerücktestes, zur Beobachtung gekommenes Mikrogametogoniestadium in Fig. 13 auf Taf. 7 dargestellt ist, wo man bereits einen Blepharoplasten mit einigen der Tochterkernen verbunden sieht.

Wegen des fast konstanten Fehlens eines Blepharoplasts bei den Teilindividuen, glaube ich, dass Fig. 14 und 19 eine Makrogametogonie bedeuten, welche

constituidas, uma macrogametogonia, a qual seria proveniente das formas arredondadas que perderam o blefaroplasto ao iniciar-se a divizão.

A gametogonia dá orijem a pequenos tripanozomos que, como já foi referido, aprezentam dois aspetos bem distintos, os quais julgamos macho e femeo conforme a riqueza cromatica do nucleo (fig. 22, 23, est. 7).

Estes gametos, uma vez que não sejam retirados do organismo do vertebrado pela picada do transmissor, serão destruidos ou sofrerão algumas modificações?

Acreditamos que alguns possam atinjir as dimensões das grandes formas longas e que outros, depois de adaptados ao meio hematico, de que falaremos adiante, se transformem nas *formas largas*.

As figs. 28, 27, est. 8, reprezentam justamente o ponto intermediario entre os gametos (figs. 22 e 23, est. 7) e as *grandes formas longas* (figs. 30 e 31, est. 8).

Como já dissemos, não nos foi possivel colher rezultados sobre a transmissão deste parazito, pelo que não podemos saber si os individuos, destinados á copulação no organismo do transmissor, são reprezentados aqui pelas *grandes* ou pelas *pequenas formas longas*. Devemos notar que nunca nos foi dado observar estádios de divizão destas ultimas no sangue das rãs.

As fórmas sexuadas, como já foi referido acima, diminue muito em numero, chegando a dezaparecer nas infeções antigas.

Isto parece em contradição com fatos observados em certos hematozoarios em que os individuos sexuados aparecem em periodo mais ou menos adiantado da infeção.

Como é sabido, a sexualidade exprime condições desfavoraveis devidas, principalmente, ás reações defensivas do organismo parazitado ou de ajentes terapeuticos.

Em tripanozomo não patojenico, como é o cazo prezente, um dos periodos mais

von den runden Formen abstammt, die den Blepharoplast zu Anfang der Teilung verloren haben.

Die Gametogonie führt zur Bildung kleiner Tryponosomen, die, wie schon erwähnt, ein zweifaches Bild zeigen und die wir, je nach dem grösseren oder geringeren Chromatinreichtum, als männliche oder weibliche auffassen (Fig. 22 und 23).

Es fragt sich, ob diese Gameten zerstört werden oder Veränderungen erleiden, wenn sie nicht durch einen Schmarotzer dem Blute des Wirbeltieres entzogen werden. Ich glaube, dass einige derselben die Dimensionen der grossen länglichen Formen erreichen können und andere sich nach einer gewissen Anpassung an das Blutmedium in *breite Formen* verwandeln. Die Fig. 28 und 29 zeigen gerade den Uebergang von den Gameten (Fig. 22 und 23) zu den *grossen länglichen Formen* (Fig. 30 und 31, Taf. 8).

Wie gesagt, konnte ich über die Uebertragung der Parasiten nicht eruiren, so dass ich nicht sagen kann, ob die zur Kopulation im Organismus des Uebertrögers bestimmten Formen hier durch die *grossen* oder durch die *kleinen* länglichen Individuen repräsentiert sind. Es muss bemerkt werden, dass ich von letzteren niemals Teilungsstadien im Blute der Frösche beobachten konnte.

Wie schon oben gesagt, vermindert sich die Zahl der geschlechtlichen Tiere und in alten Infecktionen können sie gänzlich verschwinden. Es bildet dies scheinbar einen Widerspruch zu den Beobachtungen an gewissen Hämatozoen, bei welchen die geschlechtlichen Individuen in einer mehr oder weniger vorgeschrittenen Periode der Infektion erscheinen.

Wie bekannt, deutet die Sexualität ungünstige Lebensbedingungen an, wie sie besonders durch Abwehrreaktionen des Organismus oder therapeutische Agentien veranlasst werden.

Bei nicht pathogenen Trypanosomen ist, wie im vorliegenden Falle, die kritische Lebensphase diejenige, in welchem er aus

precarios de sua vida é justamente aquelle em que elle passa, do hospede transmissor, para o meio hematico do vertebrado.

Tal passajem ocaziona naturalmente a conservação das fórmas mais rezistentes até que o parazito se adapte ao novo *habitat*. Isto explica o fato observado no *Trypanosoma rotatorium*.

As observações feitas sobre este hematozoario autorizam a extensão dos carateres do genero *Trypanosoma*, ao qual elle serve de tipo.

Por isso, formulamos a seguinte diagnoze do genero: Organismos alongados, munidos de dois nucleos, um anterior, e outro posterior; deste ultimo parte o flajelo que, percorrendo a borda da membrana ondulante, oferece uma porção livre. *Aprezentam dois processos de multiplicação: divizão multipla, para as fórmas sexuadas, distinguivel em macro- e microgametogonia; e divizão binaria para as fórmas indiferentes ou asexuadas.*

E' possivel que pesquizas mais minuciozas venham demonstrar a existencia dos dois processos de multiplicação em outros tripanozomos, pelo que não estabelecemos para estes um novo genero.

Atualmente sabemos por comunicação oral do Prof. Bertarelli, que em seu laboratorio foram vistas fórmas de gametogonia do *Trypanosoma lewisi* no pulmão de ratos; tambem neste Instituto o Dr. G. Vianna constatou a dualidade dos processos multiplicativos nos *Trypanosoma gambiense*, *equinum* e *congolense*.

Ao terminar, deixamos aqui rejistrados os nossos sinceros agradecimentos ao illustre mestre Dr. Oswaldo Cruz pelo generozo acolhimento com que demaziado nos honra, e ao Dr. Carlos Chagas que, diariamente, nos dispensa lições das mais sabias e proveitozas.

Manguinhos, Março de 1911.

dem Ueberträger ins Blut der Wirbeltiere tritt.

Ein solcher Vorgang führt natürlicherweise zur Konservation gewisser, mehr widerstandsfähiger Formen, bis der Parasit sich an den neuen Wohnort gewöhnt hat. So erklärt sich das beim *Trypanosoma rotatorium* beobachtete Verhalten.

Die bei unserem Blutparasiten gemachten Beobachtungen rechtfertigen eine Erweiterung der Kennzeichen des Genus *Trypanosoma*, dem er als Typus dient.

Demgemäss formuliere ich die Diagnose dieser Gattung folgendermassen: Längliche Organismen mit zwei Kernen, einem vorderen und einem hinteren; von letzterem geht die Geissel aus, welche, nachdem sie den Rand der undulierenden Membran durchlaufen, in ein freies Stück endigt. *Sie zeigen zwei Vermehrungsarten: eine vielfache Teilung bei den geschlechtlichen Formen, welche eine Makro- und Mikrogametogonie unterscheiden lässt, und eine Zweiteilung bei den geschlechtslosen oder indifferenten Formen.*

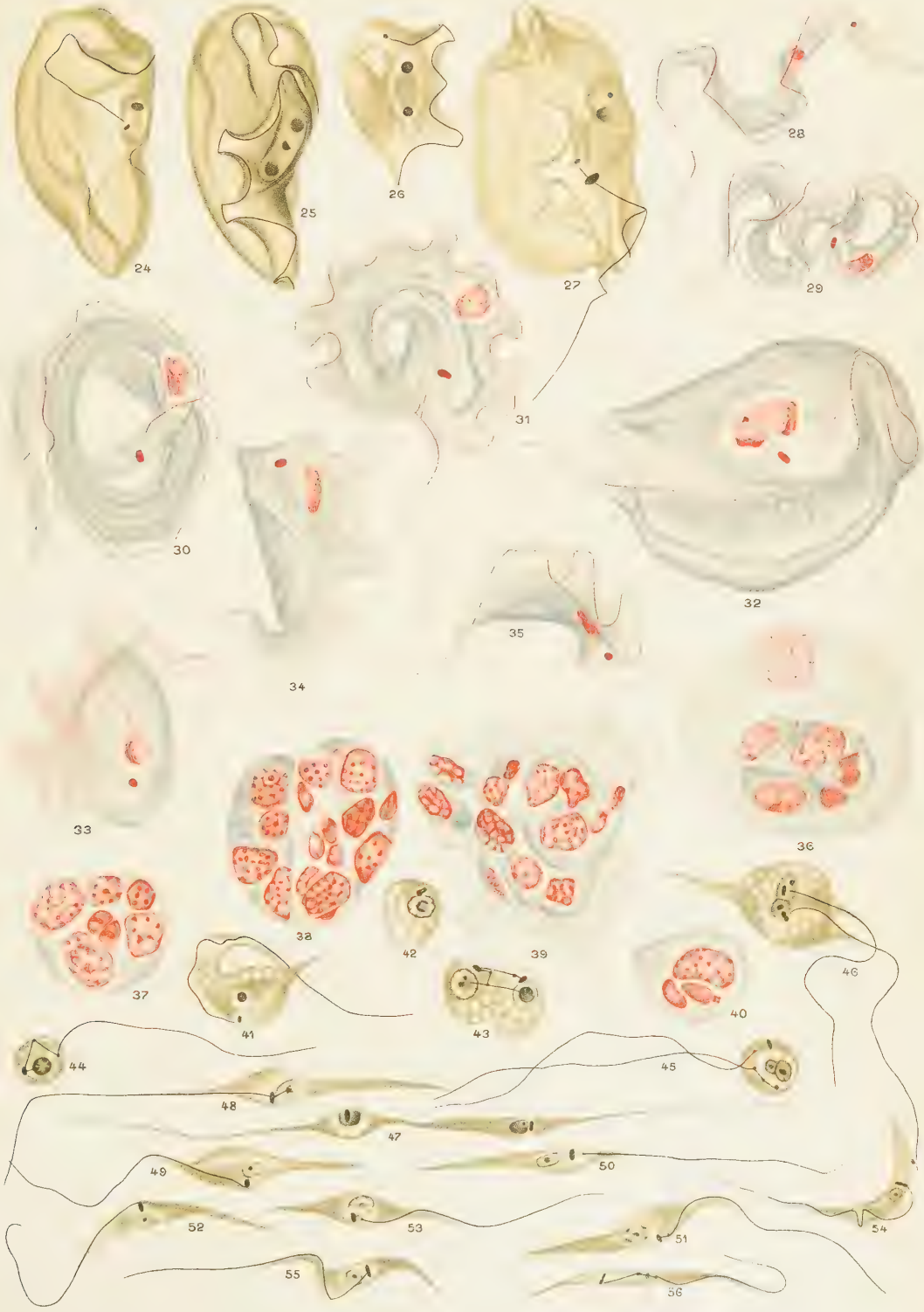
Es ist möglich, dass eingehendere Untersuchungen das Vorkommen dieser bei den Teilungsarten auch bei anderen Trypanosomen erweisen wird, weshalb ich für dieselben kein neues Genus aufstelle.

Heute weiss ich aus einer mündlichen Mitteilung von Prof. Bertarelli, dass in seinem Laboratorium Gametogonieformen von *Trypanosoma lewisi* in den Lungen von Ratten beobachtet wurden; auch in unserem Institute wurde von Dr. G. Vianna eine Dualität der Vermehrungsprozesse bei *Trypanosoma gambiense*, *equinum* und *congolense* festgestellt.

Zum Schlusse spreche ich meinem verehrten Lehrer Herrn Dr. Oswaldo Cruz für seine freundliche Aufnahme im Institute und Herrn Dr. Carlos Chagas für seine fortgesetzte wertvolle Belehrung meinen aufrichtigsten Dank aus.

Manguinhos, März 1911.

Castro Silva. del.



Castro Silva. del.

EXPLICAÇÃO DAS ESTAMPAS 7 E 8.

As preparações foram feitas em laminulas, fixadas a humido em sublimado-alcool de SCHAUDINN, e coradas pelo metodo de ROSENBUSCH. As figs. 28—40 foram coradas pelo processo de GIEMSA, a seco. Todas as formas foram dezenhadas com igual aumento (Zeiss- Object, -Apochr. 2 mm. e Oc. compens 8), exceção feita da fig. 5 que foi obtida com a objetiva imm. $^1/_{12}$ Zeiss, e Oc. compens. 8).

Figs. 1-4.	Grandes fórmas longas.
» 2 e 3.	Individuos femeos.
» 1 e 4.	» machos.
» 5-12 e 24.	Fórmas arredondadas em fazes preparatorias para a divizão nuclear.
» 9-12.	Cariozomas em divizão.
» 13.	Nucleos filhos, alguns em novas divizões, outros já providos de blefaroplasto.
» 14, 15, 18.	Gametogonia em que as celulas jovens se acham constituidas.
» 16.	Desprendimento dessas celulas.
» 17 e 19.	Novas divizões das mesmas celulas.
» 20.	Individuo jovem em formação de aparelho flajelar.
» 22 e 23.	Pequenas formas longas.
» 21, 25.	Fórmas largas.
» 25 e 26.	Divizão binaria do nucleo.
» 27.	Nucleo e blefaroplasto já divididos.
» 20 e 29.	Aspetos intermediarios ás *pequenas e grandes formas longas.*
» 31 e 31.	Grandes fórmas longas, onde é vizivel a diferença da dispozição do plasma.
» 32.	Forma larga, cujo nucleo está em divizão binaria.
» 33-35.	Fórmas largas.
» 30-40.	Estadios diversos da gametogonia.
» 41-56.	Fórmas de cultura.
» 41.	Condensação do endoplasma em torno dos nucleos. Cultura de 3 horas.
» 42 e 43.	Individuos arredondados. Cultura de 12 horas.
» 44 e 45.	Flagelos recentemente formados. Cultura de 3 dias.
» 46-52.	Critidias. Culturas de 5 dias em diante.
» 53.	Blefaroplasto já em rejião posterior do nucleo.
» 54, 55, 56.	Fórmas tripanozomicas. Cultura de 5 dias em diante.
» 56.	Centriolo dividido.

ERKLAERUNG DER TAFELN 7 UND 8

Die Präparate wurden auf Deckgläsern hergestellt, feucht mit Sublimatalkohol nach SCHAUDINN fixiert und nach ROSENBUSCH gefärbt. Nur die Fig. 28—40 stellen nach GIEMSA gefärbte Trockenpräparate dar. Sämmtliche Bilder sind mit derselben Vergrösserung entworfen (ZEISS Apochr. 2mm. und Comp. oc. 8); nur Fig. 5 wurde mit IMM. $^1/_{12}$ und Comp. oc. 8 von ZEISS entworfen.

Fig.	
1—4.	Grosse längliche Formen.
2—3.	Weibliche Individuen.
1 & 4.	Männliche Individuen.
5—12 & 24.	Abgerundete Formen in den vorbereitenden Phasen der Kernteilung.
9—12.	Karyosome in Teilung.
13.	Tochterkerne, einige in neuer Teilung begriffen, andere schon mit Blepharoplast.
14, 15 & 18.	Gametogonie, bei der die jungen Zellen bereits gebildet sind.
16.	Ablösung dieser Zellen.
17 & 19.	Neue Teilungen derselben Zellen.
20.	Junges Individuum in Bildung des Geisselapparates begriffen.
22 & 23.	Kleine lange Formen.
21 & 25—27.	Breite Formen.
25 & 26.	Zweiteilung des Kernes.
27.	Kern und Blepharoplast schon geteilt.
28 & 29.	Uebergänge zwischen kleinen und grossen länglichen Formen.
30 & 31.	Grosse lange Formen, bei denen man die verschiedene Plasmaanordnung sieht.
32.	Breite Form, deren Kern in Zweiteilung begriffen ist.
33—35.	Breite Formen.
36—40.	Verschiedene Phasen der Gametogonie.
41—56.	Kulturformen.
41.	Kondensation des Endoplasmas um die Kerne. Drei Stunden alte Kultur.
42 & 43.	Abgerunde Individuen. 12 Stunden alte Kultur.
44 & 45.	Neugebildete Geisseln. 3 Tage alte Kultur.
53.	Blepharoplast schon im hinteren Teile des Nukleus gelegen.
54—56.	Trypanosomenformen vom fünften Kulturtage an.
56.	Geteilte Zentriolen.

BIBLIOGRAFIA.
BIBLIOGRAPHIE.

Aragão, H. de Beaurepaire	1909	Sobre a Amoeba diplomitotica, n. esp. Mem. do Instituto Oswaldo Cruz.
Aragão, H. de Beaurepaire	1910	Pesquizas sobre a Polytomella agilis n. g., n. sp. Mem. do Instituto Oswaldo Cruz.
Berliner, E.	1909	Flagellaten-Indien. Arch. f. Protistenkunde Bd. XVIII, pg. 115.
Borgert, A.	1909	Untersuchungen über die Fortpflanzung der tripyleen Radiolarien, speziell von *Aulacantha scolymantha* H. II Teil. Arch. f. Protistenkunde Bd. XIV, p. 134.
Bott	1907	Ueber die Fortpflanzung von Pelomyxa palustris. Arch für Protistenkunde Bd. XVIII, p. 120.
Bouet	1906	Culture du trypanosome de la grenouille. Ann. de l'Institut Pasteur. T. XX, pg. 564.
Boveri, Th.	1901	Zellen-Studien, IV Ueber die Natur der Centrosomen. Jen. Zeitschr. Bd. XXXV, pg. 1.
Chagas, Carlos	1909	Nova Trypanozomiase humana. Mem. do Instituto Oswaldo Cruz. T. I, Fac. II.
Chagas, Carlos	1910	Adelea hartmanni, n. sp. Mem. do Instituto Oswaldo Cruz. T. II, Fac. II.
Chagas, Carlos	1911	Sobre as variações do nucleo nos Infuzorios. Mem. do Instituto Oswaldo Cruz. T. III.
Chatton, E.	1910	La structure du noyau et la mitose chez les amoebiens. Arch. de Zool. expér. T. V, 5.° série, pg. 287.
Danilewsky	1889	Parasitologie comparée du sang. Charkow.
Doflein, F.	1910	Studien zur Naturgeschichte der Protozoen. Arch. f. Protistenkunde, pg. 208, Bd. XIX.
Dutton, Todd & Tobey	1907	Concerning certain parasitic Protozoa observed in Africa. Annals of trop. Medicine & Parasitology. Vol. I, N. 3.
França & Athias	1907	Recherches sur les Trypanosomes des Amphibiens. Mem. do Instituto Camara Pestana. T. I, p. 127.
Hartmann, Max	1908	Eine neue Dysenterienamoebe: Entamoeba tetragena. Arch. f. Schiffs- und Tropenhyg. Bd. XII, p. 117.
Hartmann, Max	1910	Entamoeba testudinis n. sp. Memorias do Instituto Oswaldo Cruz. T. II, Fac. 1.
Hartmann, Max	1909	Polyenergide Kerne. Biologisches Centralbl. Bd. XXXIX, pgs. 481 e 491.
Hartmann, Max	1910	Trichonympha hertwigi. Separatabdruck: Festschrift zum 60sten Geburtstage Richard Hertwigs.
Hartmann, Max & Chagas, Carlos ..	1910	Estudos sobre Flajelados. Memorias do Instituto Oswaldo Cruz. Tomo II, Fac. I.
Hartmann, Max & Chagas, Carlos ..	1910	Sobre a divizão nuclear da Amoeba hyalina Dang. Memorias do Instituto Oswado Cruz. Tomo II, Fac. II.
Hartmann, Max & Naegler, K.	1908	Amoeba diploidea. Sitz. — Ber. d. Naturforsch. Freunde. Berlin, IV, p. 15.
Hartmann, Max & Prowazek, S. von	1907	Blepharoplast, Karyosom und Centrosom. Arch. f. Protistenk. Bd. X, p. 306.

JOLLOS, V. ..... 1908 Multiple Teilung und Reduktion bei *Adelea ovata* A. SCHNEIDER.
Arch. f. Protistenk. *Bd.* XVX, p. 252.

JOLLOS, V. ..... 1910 Dinoflagellaten-Studien.
Arch. f. Protistenk. Bd. XIX, p. 178.

JOLLOS, V. ..... 1910 Trypanoplasma helicis.
Arch. f. Protistenk. Bd. XVIII.

KEYSSELITZ, G. ..... 1908 Die Entwicklung von Myxobolus pfeifferi.
Arch. f. Protistenk. Bd. II, p. 258.

LAVERAN & MESNIL ... 1904 Trypanosomes et Trypanosomiases.
Paris 1904.

LEBEDEFF, W. ..... 1910 Ueber Trypanosoma rotatorium Gruby.
Festschr. zum 60sten Geburtstaage Richard Hertwigs.
Bd. I, p. 399.

MOORE & BREINL ..... 1907 Annals of Trop. Medic. and Parasitology. Vol. I, N. 3.

NAEGLER, K. ..... 1909 Entwicklungsgeschichtliche Studien ueber Amoeben.
Arch. f. Protistenk. Bd. XV, p. 1.

NAEGLER, K. ..... 1910 Prowazekia parva n. sp.
Arch. f. Protistenk. Bd. XVIII.

ROSENBUSCH, F. ..... 1909 Trypanosomenstudien.
Arch. f. Protistenk. Bd. XV, p. 263.

SCHAUDINN, FRITZ ..... 1896 Ueber das Centralkorn der Heliozoen.
Verh. d. deut. zool. Gesellschaft.

SCHAUDINN, FRITZ ..... 1904 Generations- und Wirtswechsel bei Trypanosoma und Spirochaete.
Arb. a. d. Kais. Ges. — Amt. Vol. 20, p. 387.

WOODCOCK, H. M. .... 1910 Studies on Avian Hemoprotozoa.
Quarterly Journ, of Microscopical Science. V. 55, p. 64.

ZUELZER, M. ..... 1909 Bau und Entwicklung von *Wagnerella borealis*.
Arch. f. Protistenk. Bd. 17, p. 135.

Sobre as variações ciclicas do cariozoma em duas especies de ciliados parazitos.

Contribuição para o estudo do nucleo nos infuzorios

PELO

Dr. Carlos Chagas

(Chefe de serviço.)

(Com as estampas 9 e 10)

Über die zyklischen Variationen des Caryosoms bei zwei Arten parasitischer Ciliaten.

Beitrag zum Studium des Infusorienkernes

VON

Dr. Carlos Chagas

(Abteilungsvorsteher am Institute.)

(Mit Tafeln 9 u. 10)

Vizamos tratar, neste pequeno estudo de duas especies de infuzorios parazitos, dos aspetos nucleares observados, que nos parecem autorizar a aplicação aos nucleos dos infuzorios da teoria de HARTMANN sobre variações ciclicas do cariozoma.

Até agora os nucleos dos infuzorios, considerados como tipo dos nucleos em massa, pareciam escapar á condição geral dos nucleos cariozomicos, não sendo nelles aplicaveis as ideas de HARTMANN e v. PROWAZEK sobre a duplicidade nuclear. A existencia mesma de cariozoma no nucleo de infuzorios só raramente tem sido assinalada, não sendo considerados tais, pela maioria dos autores, corpusculos cromaticos mais ou menos volumozos, encontrados na trama acromatica que constitue a massa

In dieser kurzen Untersuchung über zwei Arten parasitischer Infusorien beabsichtige ich, die an den Kernen beobachteten Erscheinungen zu besprechen, welche, wie mir scheint, gestatten, die Theorie von HARTMANN über zyklische Variationen des Karyosoms auf die Kerne der Infusorien auszudehnen.

Bis jetzt wollte es scheinen, als ob die Kerne der Ziliaten, welche als Typus der massiven Kerne galten, von der allgemeinen Regel des Karyosomkernes eine Ausnahme bildeten, auf welche sich die Ideen von HARTMANN und v. PROWAZEK über die Doppelkernigkeit nicht anwenden liessen. Selbst das blosse Vorkommen eines Karyosoms im Infusorienkerne war nur selten konstatiert worden, indem von den meisten Autoren die, mehr oder weniger volumösen, Chromatinkörperchen, welche in dem achromatischen Gerüste der Zentralmasse ver-

central dos nucleos de varias especies de ciliados.

V. Prowazek, no macronucleo do *Leucophrys patula*, assinalou a existencia inconstante de um cariozoma e, pela primeira vez, nelle refere a existencia de processos ciclicos.

A teoria de Hartmann sobre variações ciclicas do cariozoma poderá ser sintetizada do modo seguinte :

O cariozoma, munido sempre de um centriolo (e o centriolo carateriza como cariozomas os corpusculos cromaticos) experimenta mutações ciclicas nas quais é expelida para a periferia do nucleo a cromatina, dispondo-se esta ora em circulos concentricos, ora de modo irregular, na trama de linina, ora finalmente na face interna da membrana nuclear. O fenomeno poderá ir muito lonje, de modo que a totalidade da cromatina do cariozoma se difunda na substancia do nucleo exterior, restando no centro apenas o centriolo, em torno do qual, por fenomenos de sinteze, será reconstituido o cariozoma. Daí os aspetos variaveis, em relação á dispozição da cromatina, que se podem observar no nucleo em repouzo de um mesmo protozoario ; daí ainda a conveniencia de se modificar a concepção de duplicidade nuclear nos nucleos de cariozoma, compreendendo-a como duplicidade de componentes nucleares. A nova doutrina das variações ciclicas do cariozoma foi formulada por Hartmann em estudos sobre a citolojia da *Amoeba tetragena*, encontrando depois novos elementos de confirmação nos aspetos nucleares da *Entamoeba testudinis* e de diversos flajelados, relevando salientar, entre os ultimos, a *Cyathomonas truncata*, cujo nucleo em repouzo constitue uma das mais belas demonstrações daquele fenomeno (Fig. 49, 50 e 51, Estampa, 7 dos Estudos sobre flajelados de Hartmann e Chagas, 1910). Na definição de nucleo, segundo Hart-

schiedener Ziliatenkerne vorkommen, nicht als solche angesehen wurden.

V. Prowazek gab im Makronukleus von *Leucophrys patula* das unbeständige Vorkommen eines Karyosoms an und erkannte zuerst das Bestehen zyklischer Prozesse.

Die Theorie von Hartmann über das Vorkommen zyklischer Veränderungen am Karyosom lässt sich wie folgt, zusammenfassen :

Das Karyosom, welches stets ein Zentriol enthält und durch dieses einfachen Chromatinkörperchen gegenüber charakterisiert wird, macht zyklische Veränderungen durch, während welcher das Chromatin nach der Peripherie des Kernes wandert und sich, bald in konzentrischen Kreisen, bald unregelmässig im Liningerüst oder endlich an der Innenseite der Kernmembran ablagert. Die Erscheinung kann so weit gehen, dass das gesammte Chromatin des Karyosoms in die Substanz des Aussenkernes austritt und im Zentrum nur das Zentriol zurückbleibt, um welches sich durch synthetische Prozesse das Karyosom rekonstituiert. So erklären sich die verschiedenen Bilder der Chromatinverteilung, die man im ruhenden Kerne desselben Protozoen beobachten kann und lässt sich eine veränderte Auffassung der Doppelkernigkeit der Karyosomkerne begründen, indem sie als Duplizität der Nuklearkomponente aufgefasst wird. Die neue Lehre von den zyklischen Veränderungen des Karyosoms wurde von Hartmann bei seinen Untersuchungen über die Zytologie der *Amoeba tetragena* aufgestellt und er fand weitere Bestätigung in den Kernbildern der *Amoeba testudinis* und verschiedener Flagellaten, von welchen die *Cyathomonas truncata* hervorgehoben zu werden verdient, deren ruhender Kern eines der schönsten Beispiele dieser Erscheinung bietet (s. Flagellatenstudien von Hartmann und Chagas, T. VII, Fig. 49, 50 und 51). Nach Hartmann figuriert das Zentriol bei der Definition des Kernes als ein wesentliches Organ, indem es eine Energide representiert und das dirigierende

MANN, figura o centriolo como orgam essencial, reprezentando elle uma *enerjide* e constituindo o centro diretor dos fenomenos de metabolismo nuclear e de multiplicação dos nucleos. Assinalado em numerozos grupos de protozoarios, sel-o-á de certo naqueles em que não foi possivel até agora observal-o.

A auzencia aparente de cariozoma e de centriolo nos denominados nucleos veziculozos sem cariozoma e nos nucleos em massa seria explicada, segundo HARTMANN, pela difuzão total do cariozoma no nucleo exterior, até ao centriolo, em virtude das variações ciclicas do cariozoma ; daí rezulta a impossibilidade de se reconhecer o centriolo na estrutura alveolar, impregnada de cromatina. Será este o cazo dos nucleos de infuzorios?

Vamos referir nossas observações. Trataremos especialmente dos aspetos nucleares, não nos tendo sido possivel completar o estudo biolojico das duas especies de infuzorios referidos.

BALANTIDIUM (?) LITTORINAE.

Duas formas bem distintas, quer pelas dimensões, quer mesmo pelo aspeto exterior, aprezenta este ciliado examinado em vida. Uma das formas, notavelmente maior, mostra os seguintes caracteres: Corpo alongado, asimetrico, com uma das bordas levemente convexa a outra levemente concava com uma das extremidades, a que fica na frente durante o movimento, afilada e a outra mais larga, aprezentando esta ultima uma abertura munida de um feixe de cilios muito compridos.

Espalhados sobre toda a superficie externa de modo regular, ha cilios longos, movendo-se em ondulações apreciaveis. Estriações numerozas lonjitudinais sobre toda a superficie, constituidas de finas granulações, pontos de implantação dos cilios. A abertura bucal, pela qual emerjem cilios mais longos do que os da superficie. é limitada por duas dobras salientes, sendo maior a saliencia da borda convexa. A abertura bucal é continuada por uma fenda afunilada que vai ter ao endoplasma.

Zentrum bei den Stoffwechselerscheinungen und der Vermehrung der Kerne vorstellt. Bei zahlreichen Gruppen von Protozoen beobachtet, ist dasselbe zweifellos auch bei denen zu erwarten, in denen sein Nachweis bisher nicht stattfand.

Die scheinbare Abwesenheit von Karyosom und Zentriol in den sogenannten bläschenförmigen und in den massiven Kernen lässt sich nach HARTMANN durch die allgemeine Verteilung des Chromatins im Aussenkern bis an das Zentriol, als Folge der cyklischen Veränderungen des Karyosoms, erklären ; es folgt daraus die Unmöglichkeit, das Zentriol in dem mit Chromatin imprägnierten wabigen Gerüste zu erkennen. Sollte dies nicht auch bei den Kernen der Infusorien der Fall sein?

Ich gehe zum Bericht über meine Beobachtungen über und werde besonders die Kernbilder besprechen, da es mir vor der Hand nicht möglich ist, das biologische Studium der beiden erwähnten Infusorienarten zu vollenden.

BALANTIDIUM (?) LITTORINAE.

Dieser Ziliat zeigt zwei, durch Grösse und andere Kennzeichen verschiedene, Formen. Die eine, bedeutend grössere, bietet während des Lebens folgende Charaktere: Verlängerter, assymetrischer Körper mit einem etwas konkaven und einem leicht konvexen Seitenrande, so wie einem zugespitzten, bei der Bewegung vorausgehenden, und einem breiteren Ende, welches eine, mit einem Büschel sehr langer Zilien versehene, Oeffnung zeigt. Auf der ganzen Aussenfläche regelmässig verteilte, lange Wimperhaare, deren Basis zahlreiche, aus feinen Körnchen bestehende, Längsstreifen bildet, zeigen deutliche Wellenbewegungen. Die Mundöffnung, aus welcher Zilien hervorragen, welche die der Oberfläche an Länge übertreffen, ist von zwei vorspringenden Falten begrenzt, deren grössere am konvexen Rande liegt. Die Mundöffnung setzt sich in eine trichterförmige Spalte fort, welche zum Endoplasma führt.

Na extremidade posterior, junto á borda convexa, existe um vacuolo, não pulsatil, permanente.

O macronucleo, no estado vivo, é apreciavel como uma massa alongada, refrinjente, granuloza, colocada no meio do organismo. O micronucleo, dificilmente vizivel em vida, acha-se colocado entre o macronucleo e a extremidade anterior.

A forma pequena distingue-se da precedente, no estado vivo, principalmente pelas dimensões consideravelmente menores e ainda pelo aspeto da extremidade posterior, onde as bordas da abertura bucal ficam num mesmo plano (fig. 1, est. 9).

Estudo em preparados côrados.

Tecnica.

Todos os preparados foram feitos em esfregaços, sendo os parazitos fixados no meio natural pelo sublimado-alcool (segundo Schaudinn) e em liquido de Hermann. A coloração foi realizada pela hematoxilina ferrea de Heidenhain e tambem, como contraprova, pela hematoxilina de Delafield.

Estrutura nuclear.

O macronucleo e o micronucleo aprezentam nas duas formas do infuzorio a mesma estrutura, pelo que daremos descrição de conjunto.

Macronucleo.

Grandes variantes de aspeto, relativas á dispozição da cromatina á prezença ou auzencia de cariozoma, são observadas no macronucleo. Este mostra, como partes essenciais, uma membrana nuclear de contornos nitidos, um espaço claro (zona de suco nuclear) onde não é apreciavel qualquer estrutura cromatica ou acromatica, e no centro uma massa volumoza, de aspeto granulozo, com a cromatina distribuida de modos varios. O estudo desta dispozição da substancia cromatica, ligada seguramente ás variações cicilicas do cario-

Nahe dem konvexen Rande findet sich an Hinterende eine permanente, nicht pulsierende Vacuole.

Der Makronukleus ist im Leben als eine mitten im Körper liegende, längliche, lichtbrechende und körnige Masse sichtbar; der schwer erkennbare Mikronukleus liegt zwischen Vorderende und Makronukleus.

Die kleinere Form unterscheidet sich im Leben von der eben beschriebenen besonders durch die weit geringeren Dimensionen und überdies durch die Bildung des Hinterendes, wo die Ränder der Mundöffnung in derselben Ebene liegen (Fig. 1).

Untersuchung gefärbter Präparate.

Technik.

Alle Präparate wurden durch Ausstrich hergestellt, indem die Parasiten in ihrem natürlichen Medium mit Sublimat-Alkohol (nach Schaudinn) oder Hermann'scher Flüssigkeit fixiert wurden. Die Färbung geschah durch Eisenhämatoxylin nach Heidenhain und als Gegenprobe durch Delafield'sche Hämatoxylinlösung.

Kernstruktur.

Der Makro- und Mikronukleus zeigen bei beiden Formen dieselbe Struktur, so dass ich eine gemeinschaftliche Beschreibung geben kann.

Makronukleus.

In Hinsicht auf die Lagerung des Chromatins, sowie das Fehlen oder Vorkommen eines Karyosoms, zeigen sich beim Makronukleus sehr verschiedene Bilder. Wesentliche Bestandteile sind eine scharf umschriebene Kernmembran, ein heller Raum (Kernsaftzone), in dem weder chromatische, noch achromatische Strukturen erkennbar sind und im Zentrum eine volumöse Masse mit verschiedentlich verteiltem Chromatin. Das Studium der Anordnung dieser Chromatinsubstanz, welche zweifellos mit den zyklischen Veränderungen des

zoma, constitue o objetivo principal desse trabalho.

A cromatina, ora se acha distribuida regularmente em finas granulações iguais, sem que, em tais nucleos, seja vizivel cariozoma ou algum corpusculo identificavel ao centriolo (figs. 2 e 3, est. 9); ora as granulações cromaticas são maiores, desiguais entre si e irregularmente dispostas sobre a trama de substancia acromatica (figs. 4 e 5, est. 9). O primeiro estádio indica a condição de difuzão extrema da cromatina na substancia acromatica e o segundo um estado anterior, em que a cromatina expelida pelo cariozoma ainda se encontra distribuida em massas maiores.

Em outros nucleos encontram-se cariozomas bem tipicos, cuja estrutura (figs. 6 e 7, est. 9) é a seguinte: uma massa central compacta de cromatina, circumdada de um halo claro, sendo este limitado por uma especie de membrana. Para fóra dessa membrana, outro halo claro, que se continúa insensivelmente com a massa granuloza geral.

As dimensões do cariozoma são muito variaveis, o que se relaciona com as fazes sucessivas das variações ciclicas Em alguns nucleos (fig. 8, est. 9) só se reprezenta o cariozoma por um corpusculo minimo, que talvez seja o centriolo, caraterizado como tal pelo halo claro que o circumda.

Outras granulações maiores de cromatina distinguem-se perfeitamente de cariozomas pela auzencia de circulo claro em torno dellas (fig. 9, est. 9).

Alguns macronucleos aprezentam um unico cariozoma (fig. 7, est. 9); em outros encontram-se dois e ás vezes maior numero (figs. 6 e 8, est. 9).

Aspetos que devem ser interpretados como divizão de centriolos, observámos muitas vezes (figs. 10 e 8, est. 9). E' frequente encontrarem-se parazitos com diversos macronucleos (fig. 11, est. 9);

Karyosoms in Verbindung steht, bildet die Hauptaufgabe der vorliegenden Arbeit.

Das Chromatin findet sich bald in feinen und gleichmässigen Körnchen regelmässig verteilt, wobei in den Kernen weder ein Karyosom, noch ein mit dem Zentriol vergleichbares Körperchen erkennbar ist (Fig. 2, 3), bald sind die Chromatinkörner grösser, unter sich verschieden und unregelmässig über das Gerüst achromatischer Substanz verteilt (Fig. 4, 5). Der erste Zustand weist auf die höchste Verteilung des Chromatins über die achromatische Substanz hin, der zweite auf ein früheres Stadium, in welchem sich das vom Karyosom ausgeschiedene Chromatin noch in grösseren Massen verteilt findet.

In anderen Kernen findet man ganz typische Karyosomen, deren Struktur (Fig. 6, 7) die folgende ist: eine kompakte, zentrale Chromatinmasse, umgeben von einem hellen Hofe, welcher durch eine Art von Membran begrenzt ist; um diese liegt ein zweiter Hof, der sich unmerklich in die allgemeine körnige Masse fortsetzt.

Die Dimensionen des Karyosoms wechseln sehr, der Reihenfolge der zyklischen Veränderungszustände entsprechend. In einigen Kernen ist das Karyosom nur als kleinstes Körperchen vertreten, welches vielleicht dem Zentriol entspricht und sich als solches durch den umgebenden hellen Hof kennzeichnet.

Andere grössere Chromatinkörner unterscheiden sich deutlich von Karyosomen durch den Mangel eines sie umgebenden hellen Kreises (Fig. 9). Der Makronukleus zeigt manchmal ein einziges Caryosoma (Fig. 7), andere Male zwei und manchmal eine grössere Zahl (Fig. 6, 8).

Häufig beobachtete ich Bilder, welche als eine Teilung der Zentriolen aufgefasst werden müssen (Fig. 10, 8). Oft finden sich auch Parasiten mit mehreren Makronuklei (Fig. 11) und in diesem Falle erscheint jeder derselben als eine rundliche Masse, die bedeutend grösser ist, als der einzelne Makronukleus der gewöhnlichen Formen, jedoch dieselbe Struktur zeigt.

neste cazo cada um delles se aprezenta como uma massa arredondada, consideravelmente menor do que o macronucleo unico das formas comuns, aprezentando a mesma estrutura daquelle. Estará em relação esta multiplicidade de macronucleos com fenomenos de conjugação e subsequentes a estes?

As dimensões variaveis do cariozoma no macronucleo, a dispozição aí da cromatina em granulações cujo tamanho é variavel, encontrando-se ou massas cromaticas maiores e irregulares, ou finissimos granulos; a prezença de pequeninos corpusculos caraterizaveis como centriolos (fig. 8, est. 9) e que reprezentam talvez o estadio ultimo de expulsão da cromatina do cariozoma, tudo isso parece indicar neste ciliado a existencia de variações ciclicas do cariozoma, comparaveis ás verificadas por Hartmann em entamebas e em flagelados diversos. Rejistramos nossas observações interpretando-as de acordo com a teoria de nosso mestre M. Hartmann; naturalmente, porém, julgamos necessarias novas pesquizas sobre a estrutura dos nucleos dos infuzorios, afim de confirmar e de generalizar o fenomeno nesse grupo de protozoarios.

Micronucleo.

O micronucleo acha-se colocado entre o macro-nucleo e a extremidade anterior do parazito, á alguma distancia daquelle. Mostra uma membrana nuclear, ás vezes, muito nitida, limitando uma zona clara (zona de suco nuclear) em cujo interior existe uma massa esferica, pouco rica em cromatina que aprezenta no centro um corpusculo cromatico muito carateristico e bastante constante (centriolo?) (figs. 2, 3, 4 e 12, est. 9).

Encontram-se estadios muitos tipicos de mitoze do micronucleo. Na Fig. 2 parece haver uma divizão previa do centriolo. Na Fig. 7 observa-se um estadio de fuzo, com a substancia acromatica disposta no centro, em fibrilas transversais, e a cromatina formando duas placas polares de concavidade

Steht wohl diese Multiplizität der Makronuklei mit Konjugationsvorgängen in Verbindung und stellt einen Folgezustand dar?

Die wechselnden Grössenverhältnisse des Karyosoms im Makronukleus und die Anordnung des Chromatins in demselben als Körner von wechselnder Grösse, wobei grössere unregelmässige Chromatinmassen oder feinste Körnchen vorkommen, das Auftreten kleiner Körperchen, die sich als Zentriolen ansprechen lassen (Fig. 8) und vielleicht das letzte Stadium des Chromatinaustrittes aus dem Kerne darstellen, alles dies scheint bei diesem Ziliaten das Vorkommen zyklischer Karyosomveränderungen anzuzeigen, welche sich mit den von Hartmann bei Entamoeben und verschiedenen Flagellaten festgestellten vergleichen lassen. Ich verzeichne meine Beobachtungen, indem ich sie im Einklange mit der Theorie meines Lehrers erkläre, doch halte ich natürlich weitere Untersuchungen über die Struktur der Infusorienkerne für notwendig, um die Vorgänge bei dieser Protozoengruppe zu bestätigen und zu verallgemeinern.

Mikronukleus.

Der Mikronukleus liegt zwischen Makronukleus und Vorderende des Parasiten, etwas entfernt von dem letzteren. Er zeigt eine, manchmal sehr deutliche, Kernmembran, die eine klare Kernsaftzone begrenzt; im Innern der letzteren findet sich eine runde, chromatinarme Masse, welche im Zentrum ein sehr charakteristisches und ziemlich konstantes Chromatinkörperchen (Zentriol?) aufweist (Fig. 3, 12, 2, 4).

Es kommen sehr typische Mitosenstadien des Mikronukleus vor. In Fig. 2 scheint eine vorläufige Teilung des Zentriols vorzuliegen. In Figur 7 sieht man eine Spindelbildung, bei welcher die achromatische Substanz im Zentrum in Querfasern angeordnet ist und das Chromatin zwei Polplatten mit nach Innen gewandter Konkavität bildet, welche durch ein Chromatin-

voltada para dentro, ligadas por filamento cromatico (filamento central?). Na figura 10, finalmente, observa-se o estadio terminal da mitoze, no qual a cromatina das placas polares já se acha aglomerada em duas massas esfericas que permanecem ligadas pela centrodesmoze.

BALANTIDIUM TESTUDINIS.

Este grande ciliado do intestino de uma tartaruga (*Testudo graeca*) onde é encontrado em grande abundancia, aprezenta bem nitidos os caracteres do genero *balantidium*, devendo ser nelle incluido.

Pelo exame em vida observa-se (fig. 13, est. 10): Citostomo colocado na extremidade anterior, sendo a abertura bucal continuada por uma larga fenda, mais ou menos cilindrica, de direção obliqua. Cilios longos na abertura bucal. Revestimento de cilios regularmente dispostos em toda a superficie externa do parazito. Estrias lonjitudinais no periplasma. Cortex constituido de camada homojenea, bastante espessa. Endoplasma alveolar, encerrando muito material de incluzão. Macronucleo oval, de aspeto levemente granulozo, colocado no meio do parazito. Micronucleo não apreciavel pelo exame em vida. Abertura anal na extremidade posterior.

ESTUDO EM MATERIAL CÔRADO.

Estrutura nuclear:

Macronucleo volumozo, com membrana nuclear ás vezes muito nitida, limitando um espaço claro, radialmente cortado por delgadas fibrilas de linina (figs. 14 e 15, est. 10); no centro existe uma grande massa alveolar de substancia acromatica, que aprezenta, nas paredes dos alveolos, granulações de cromatina de dimensões muito variaveis, indicando ainda aqui, como no parazito anterior, estadios diversos de difuzão da cromatina (figs. 14, 15, 16, 17, est. 10). Em alguns nucleos (fig. 16) encontram-se aspetos que lembram cariofilament (Zentralfaser?) verbunden sind. Endlich beobachtet man in Fig. 10 das Endstadium der Mitose, in welchem das Chromatin der Polarplatten bereits in zwei runde Massen geballt erscheint, welche unter sich durch die Zentrodesmose verbunden werden.

BALANTIDIUM TESTUDINIS.

Dieser grosse Ziliat aus dem Darme einer Schildkröte (*Testudo graeca*), welcher daselbst in grosser Menge gefunden wird, zeigt sehr deutlich die Kennzeichen des Genus *Balantidium*, in welches er eingereiht werden muss.

Bei der Untersuchung im Leben (Fig. 13) beobachtet man: Ein am Vorderende gelegenes Zytostom, dessen Oeffnung sich in eine weite, mehr oder weniger zylindrische und schräg gerichtete Spalte fortsetzt. Lange Zilien in der Mundöffnung. — Ueber die ganze Oberfläche regelmässig angeordneter Winperbesatz. Längsstreifen im Periplast. Rindenschicht aus einer homogenen, ziemlich dicken Lage bestehend. Alveoläres Endoplasma mit vielen Einschlüssen.—Ovaler, leicht körnig erscheinender, in der Mitte des Parasiten gelegener, Makronukleus. Mikronukleus bei Untersuchung am lebenden Objekte nicht erkennbar. — Afteröffnung am Hinterende.

UNTERSUCHUNG AM GEFÄRBTEN MATERIALE.

Kernstruktur.

Volumöser Makronukleus mit oft sehr deutlicher Kernmembran, die einen hellen Raum umschreibt, welcher radiär von dünnen Lininfäden durchsetzt wird (Fig. 14, 15); im Zentrum findet sich eine grosse, wabige Masse achromatischer Substanz, welche in den Alveolarwänden Chromatinkörner von wechselnder Grösse zeigt, die auch hier, wie bei dem oben angeführten Parasiten, verschiedene Stadien der Chromatindiffusion anzeigen (Fig. 14, 15, 16, 17). Bei einigen Kernen (Fig. 16) sieht man Bilder, welche an gequollene Ka-

zomas intumecidos, havendo em cada um delles, na massa cromatica, uma zona central de cromatina frouxa, circumdada por uma orla de cromatina compacta ; por fóra desta ultima existe um halo claro, limitado por delgada membrana de contornos pouco nitidos.

Micronucleo :

O micronucleo deste *balantidium* acha-se colocado, ora muito proximo do macronucleo (fig. 14, 15, 17, est. 10), ora a elle aderente, situado numa depressão da superficie do nucleo principal. Apresenta uma membrana de contornos nitidos, uma zona de suco nuclear, clara e livre de qualquer substancia, e uma massa central pouco rica em cromatina (figs. 14, 17, 18, est. 10). Nas figuras 14 e 15 o micronucleo mostra-se em inicio de divizão, parecendo haver divizão da massa central (cariozoma ?) pela formação de uma fenda entre as duas metades. Nenhum outro estadio de divizão observámos no micronucleo deste *balantidium.*

A dispozição da cromatina no macronucleo do *balantidium testudinis* leva-nos a admitir aqui variações ciclicas do cariozoma, comparaveis ás encontradas no ciliado anterior. Naquelles nucleos em que não se encontra cariozoma individualizado, ter-se-á verificado a distribuição total da cromatina delle na massa de substancia acromatica.

Manguinhos, Janeiro de 1911.

EXPLICAÇÃO DA ESTAMPA 9

Fig. 1. Ciliado da Littorina em estado vivo.

Fig. 2. Forma pequena do ciliado, côrada pela hematoxilina de HEIDENHAIN, mostrando a distribuição da cromatina no macronucleo e a estrutura do micronucleo.

ryosomen erinnern und bei jedem derselben findet sich in der Chromatinmasse eine zentrale Zone lockeren Chromatins, von einem Saume kompakten Chromatins eingehüllt ; nach aussen von diesem befindet sich ein heller Hof, der von einer dünnen und nicht scharf umschriebenen Membran begrenzt ist.

Mikronukleus.

Der Mikronukleus dieses Balantidiums liegt bald sehr nahe am Makronukleus (Fig. 14, 15, 17), bald direkt an demselben, in einer Vertiefung seiner Oberfläche. Er zeigt eine scharf umschriebene Membran, eine klare Kernsaftzone ohne jede Einlagerung und eine zentrale chromatinarme Masse (Fig. 14, 17, 18). In Fig. 14 und 15 zeigt der Mikronukleus den Anfang der Teilung, wobei eine Teilung der zentralen Masse (Karyosom ?) durch Bildung einer Spalte zwischen beiden Hälften vorzuliegen scheint. Ein anderes Teilungsstadium habe ich an dem Mikronukleus dieses Balantidiums nicht beobachtet.

Die Anordnung des Chromatins im Makronukleus des *Balantidium testudinis* veranlasst uns, bei diesem zyklische Veränderungen des Karyosoms anzunehmen, welche mit denjenigen des oben zitierten Flagellaten vergleichbar sind. Bei den Kernen, welche kein individualisiertes Karyosom enthalten, wird eine vollständige Verteilung seiner Chromatinsubstanz in der Masse der achromatischen Substanz vorliegen.

Manguinhos, Januar 1911.

ERKLAERUNG DER TAFEL 9.

Fig. 1. Ziliat von *Littorina,* nach dem Leben gezeichnet.

Fig. 2. Kleine Form des Ziliaten, mit HEIDENHAIN'schem Hämatoxylin gefärbt, zeigt die Verteilung des Chromatins im Makronukleus und die Struktur des Mikronukleus.

Fig. 3. Macro- e micronucleos do ciliado da Littorina ♀. E' de notar o centriolo no micronucleo.
Fig. 4. Macro- e micronucleos. — Centriolo do micronucleo. — Cromatina distribuida em granulações deziguais no macronucleo.
Fig. 5. Macro- e micronucleos do ciliado.
Fig. 6. Forma grande do ciliado. — Macronucleo com 2 cariozomas.
Fig. 7. Mitoze do micronucleo. — Macronucleo com um cariozoma.
Fig. 8. Centriolos (2) no macronucleo. — Divizão de um dos centriolos.
Fig. 9. Macronucleo com um cariozoma e uma outra massa de cromatina que se distingue daquelle pela auzencia do halo claro em torno.
Fig. 10. Divizão de um centriolo no macronucleo e divizão do micronucleo.
Fig. 11. Forma grande com diversos macronucleos, cada um delles munido de um cariozoma.

ESTAMPA 10.

Fig. 12. Centriolo do micro-nucleo.
Fig 13. *Balantidium testudinis* no estado vivo.
Fig. 14. Macro-nucleo do *Balantidium testudinis* — Divizão e estrutura do micronucleo.
Fig. 15. Balantidium com 2 macro-nucleos — Dispozição da cromatina em pequenos granulos e na periferia da massa central.
Fig. 16. Aspeto do citostoma e dispozição da cromatina no micronucleo.
Fig. 17. Macronucleo mostrando a cromatina em granulos esparsos — Massa central com zona de suco nuclear no micronucleo.
Fig. 18. Macro-nucleo mostrando, numa depressão da superficie, o micro-nucleo.

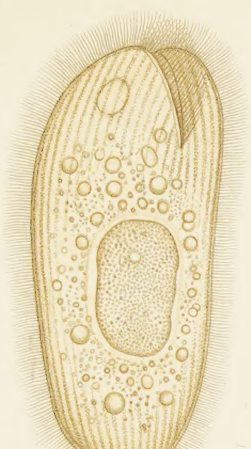
Nota : — As figuras 13 a 18 são relativas ao *Balantidium testudinis*.

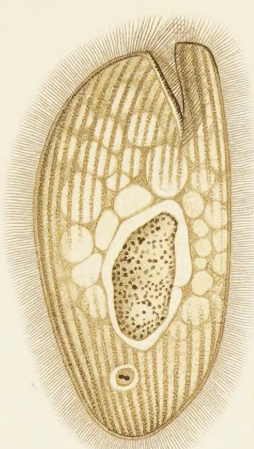
Fig. 3. Makro- und Mikronukleus der Ziliaten von *Littorina*. Man beachte das Zentriol im Mikronukleus.
Fig. 4. Makro- und Mikronukleus — Zentriol des Mikronukleus — Chromatin in Körnern verschiedener Grösse im Makronukleus verteilt.
Fig. 5. Makro- und Mikronukleus des Ziliaten.
Fig. 6. Grosse Forme des Ziliaten — Makronukleus mit zwei Karyosomen.
Fig. 7. Mitose des Mikronukleus — Makronukleus mit einem Karyosom.
Fig. 8. 2 Centriolen im Makronukleus — Teilung eines der Zentriolen.
Fig. 9. Makronucleus mit einem Karyosom und einer andern Chromatinmasse, welche sich von ihm durch den Mangel eines umgebenden hellen Hofes unterscheidet.
Fig. 10. Teilung eines Zentriol im Makronukleus und Teilung des Mikronukleus.
Fig. 11. Grosse Form mit verschiedenen Makronuklei, von denen jeder ein Karyosom enthält.

TAFEL 10.

Fig. 12. Zentriol des Mikronucleus.
Fig. 13. *Balantidium testudinis* lebend.
Fig. 14. Makronucleus des *Balantidium testudinis* — Teilung und Struktur des Mikronukleus.
Fig. 15. *Balantidium* mit 2 Makronuklei- Anordnung es Chromatins in kleinen Körnchen und an der Peripherie des zentralen Körpers.
Fig. 16. Aussehen des Cytostom's und Anordnung des Chromatins im Mikronukleus.
Fig. 17. Makronukleus, das Chromatin in einzelnen Körnchen zeigend. Zentralkörper mit Kernsaftone im Mikronukleus.
Fig. 18. Makronucleus in einer oberflächlichen Depression den Mikronukleus zeigend.

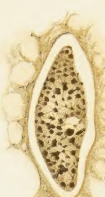
Anmerkung : — Die Fig. 13—18 beziehen sich auf *Balantidium testudinis*.


1

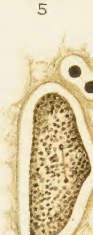

2

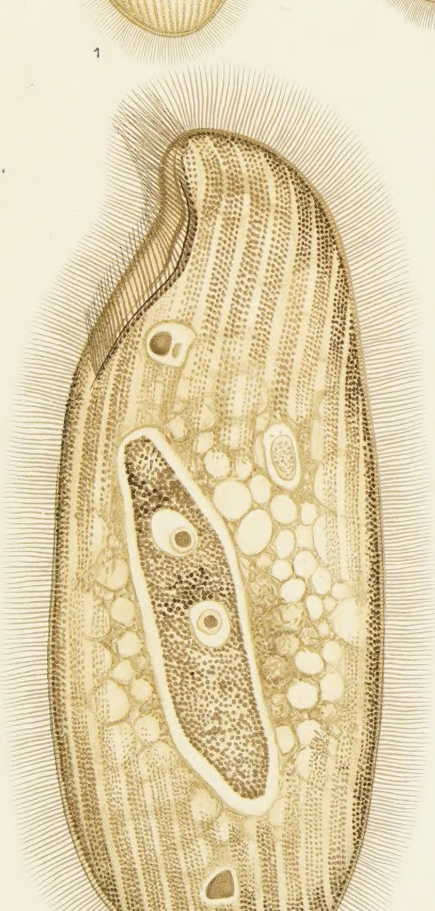
3

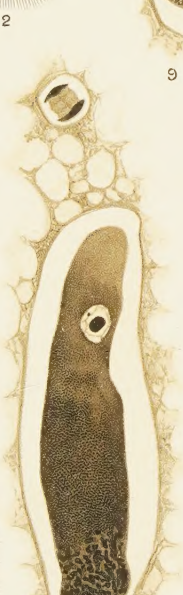
4


5

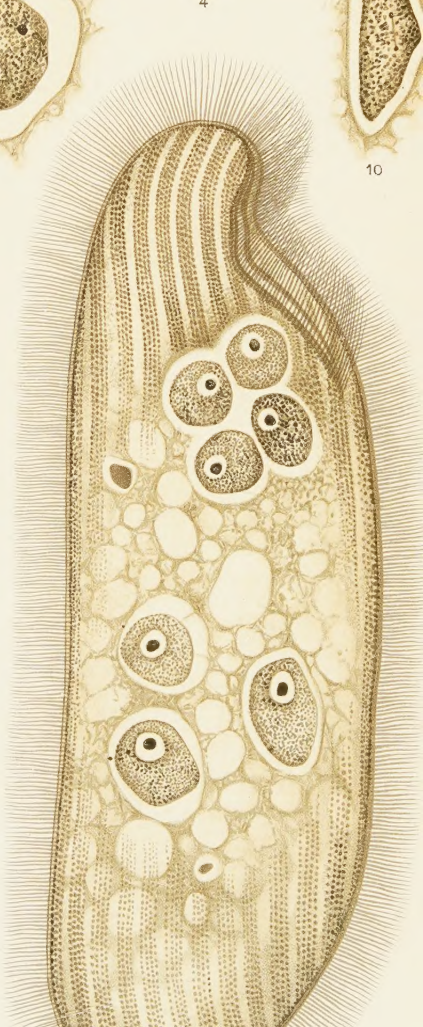
9


10

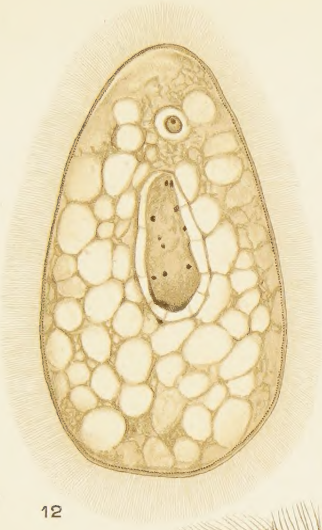

6

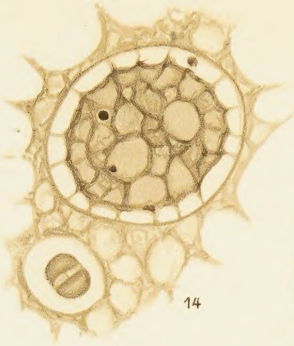

7

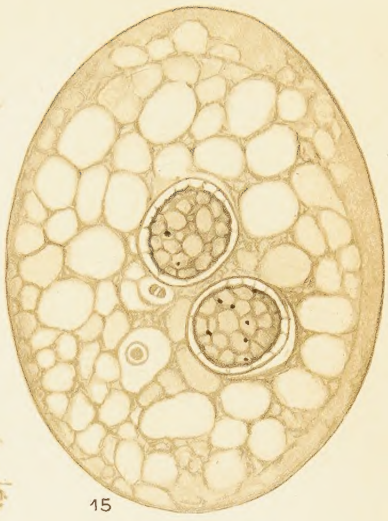
8

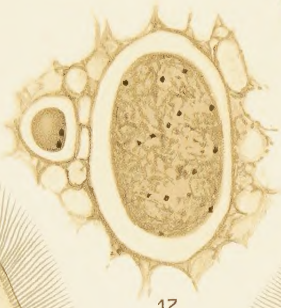

11

CastroSilva.de

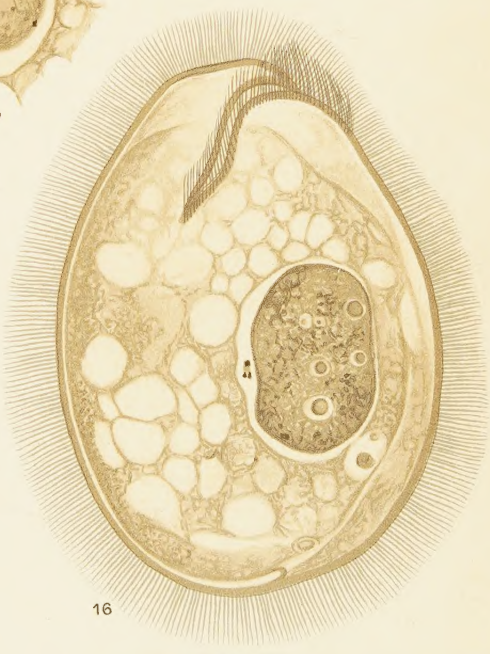

12

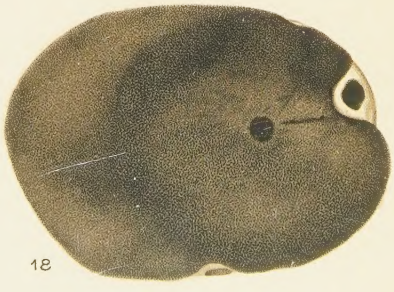

14


15


17

13


16


18

Castro Silva. del.